Aus dem Institut für Pharmakognosie und Phytochemie
der Freien Universität Berlin

# LIPOPHILE INHALTSSTOFFE
## aus
## Piper sanctum (Miq.) Schlecht

**Inaugural-Dissertation**
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie

vorgelegt von
**Carola Beer**
Friedland Kr. Waldenburg

1974

Aus dem Institut für Pharmakognosie und Phytochemie
der Freien Universität Berlin

# LIPOPHILE INHALTSSTOFFE
## aus
## Piper sanctum (Miq.) Schlecht

**Inaugural-Dissertation**
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie

vorgelegt von
**Carola Beer**
Friedland Kr. Waldenburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Referent: Professor Dr. R. Hänsel

Korreferent: Professor Dr. H. Möhrle

Tag der mündlichen Prüfung: 7. Mai 1974

Tag der Promotion:

Druck: Der Präsident der Freien Universität Berlin – Zentrale Universitätsdruckerei V aA 4, 1 Berlin 41

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin unter Leitung von Herrn Professor Dr. R. Hänsel durchgeführt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. R. Hänsel für das Überlassen des Themas der vorliegenden Arbeit, das Beschaffen der Droge und für seine wohlwollende Betreuung während der Zeit, in der ich mich mit dieser Arbeit befaßte.

Ich danke Frau Professor Dr. L. Langhammer, die mir stets mit Rat und Auskünften behilflich war, und Herrn Professor Dr. H. Rimpler, daß er jederzeit zu einem klärenden Gespräch insbesondere zur Diskussion der Spektren bereit war.

Allen Mitarbeitern am Institut möchte ich an dieser Stelle für die gute Zusammenarbeit danken, vor allem Fräulein J. Schulz für ihre äußerst wertvolle Hilfe beim Synthetisieren verschiedener Substanzen und für das Zeichnen der Formeln und Spektren, sowie Herrn W. Bähr für die Ausführung der Fotoarbeiten.

Für die Aufnahme der NMR- und Massenspektren möchte ich den Herren G. Grelbig und J. Lindemann, beide am Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin, meinen Dank aussprechen.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546512_0087

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG . . . . . 11

2. LITERATURTEIL . . . . . 13

2.1. Botanische Charakterisierung von Piper sanctum (Miq.) Schlecht . . . . . 13

2.2. Stellung der Piperaceen im Pflanzensystem . . . 14

2.3. Chemische Merkmale der Piperaceen . . . . . 16

2.4. Eigenschaften von Piper sanctum (Miq.) Schlecht 18

2.5. Bisher isolierte und beschriebene Inhaltsstoffe aus Piper sanctum (Miq.) Schlecht . . . 19

2.6. Synthese der Kawalaktone . . . . . 21

2.7. Katalytische Hydrierung der Kawalaktone . . . . 27

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

H a u p t t e i l . . . . . 32

3.1. Chromatographische Bestimmung und Isolierung lipophiler Inhaltsstoffe aus Piper sanctum (Miq.) Schlecht . . . . . 32

3.2. Verbindung S III . . . . . 36

3.2.1. Isolierung von S III . . . . . 36

3.2.2. Identifizierung der Verbindung S III . 36

3.2.3. Hydrierung von S III und Spektrendiskussion des Hydrierungsproduktes . . 43

3.2.4. Synthese von S III und S III-hydriert . 47

3.3. Verbindung S VII . . . . . 51

3.3.1. Isolierung von S VII . . . . . 51

3.3.2. Identifizierung der Verbindung S VII . 51

Seite

3.4. Verbindung S VI . . . . . 58

3.4.1. Isolierung von S VI . . . . . 58

3.4.2. Identifizierung der Substanz S VI durch spektroskopische Methoden . . . . . 58

3.4.3. Optische Drehung der Substanz S VI . . 63

3.4.4. Vergleich mit authentischem Material . 63

3.5. Massenspektroskopischer Vergleich verschiedener 5-substituierter Kawalaktone . . . . . 64

4. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Experimenteller Teil . . . . . 70

4.1. Allgemeine Angaben . . . . . 70

4.1.1. Chromatographie . . . . . 70

4.1.2. Spektroskopie . . . . . 70

4.1.3. Schmelzpunktbestimmung . . . . . 71

4.1.4. Mikroanalysen . . . . . 71

4.1.5. Optische Drehung . . . . . 71

4.2. Spezielle Angaben . . . . . 72

4.2.1. Herkunft der Droge . . . . . 72

4.2.2. Bearbeitung der Droge . . . . . 72

4.2.3. Aufarbeitung des Extraktes . . . . . 73

4.2.4. Auftrennung des Eluats aus dem Wurzelextrakt . . . . . 74

4.2.5. Auftrennung des Eluats aus dem Sproßextrakt . . . . . 75

4.2.6. Isolierung der Substanzen S III und S VII . . . . . 75

4.2.7. Eigenschaften von S III . . . . . 77

4.2.8. Acetylierung von S III . . . . . 78

4.2.9. Hydrierung von S III . . . . . 78

Seite

4.2.10. Eigenschaften von S III-hydriert . . . . . 78

4.2.11. Synthese von S III und S III-hydriert . . . 80

4.2.11.1. Synthese von 5,6-cis- und 5,6-trans-5-Hydroxymethysticin (aus nat. Methysticin) . . . . . 80

4.2.11.2. Synthese von 5,6-cis-5-Methoxymethysticin . . . . . 83

4.2.11.3. Synthese von 5,6-trans-5-Methoxymethysticin . . . . . 84

4.2.11.4. Synthese von 5,6-cis-5-Methoxy-7,8-dihydromethysticin . . . . . 85

4.2.11.5. Synthese von 5,6-trans-5-Methoxy-7,8-dihydromethysticin . . . . . 86

4.2.11.6. Synthese von 5-Methoxy-5,6-dehydromethysticin . . . . . 87

4.2.12. Eigenschaften von S VII . . . . . 88

4.2.13. Isolierung von S VI . . . . . 89

4.2.14. Eigenschaften von S VI . . . . . 90

4.2.15. Synthese von 5-Acetoxy-5,6-dehydrokawain . . 92

4.2.15.1. Synthese von 5,6-cis-5-Acetoxykawain . . . . . 92

4.2.15.2. Synthese von 5,6-trans-5-Acetoxykawain . . . . . 93

4.2.15.3. Synthese von 5-Acetoxy-5,6-dehydrokawain . . . . . 94

4.2.16. Eigenschaften von 5-Acetoxy-5,6-dehydrokawain . . . . . 94

4.2.17. Synthese von 5-Hydroxy-5,6-dehydrokawain . . 95

4.2.18. Eigenschaften von 5-Hydroxy-5,6-dehydrokawain . . . . . 95

Seite

5. DISKUSSION . . . . . 97

6. ZUSAMMENFASSUNG . . . . . 105

7. LITERATURVERZEICHNIS . . . . . 107

8. LEBENSLAUF . . . . . 113

## 1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Piper sanctum (Miq.) Schlecht hat als alte Heilpflanze - wie andere Piperarten auch - volksmedizinisch große Bedeutung für die Eingeborenen Mexikos, wissenschaftliche Bedeutung kommt dieser Pflanze seit der chemischen Untersuchung ihrer Wurzel- und Stengelteile durch HÄNSEL und PELTER zu, die dabei auf eine Gruppe von Substanzen (Cinnamylidenbutenolide) stießen, die bis dahin weder als Naturstoffe noch als synthetische Produkte bekannt waren und für die sie die Trivialbezeichnung "Piperolide" vorschlugen (1). Außerdem konnte in der gleichen Pflanze ein Kawalakton mit der Konstitution des 5,6-Dehydro-7,8-dihydromethysticin nachgewiesen werden (2). Beide Stoffgruppen kann man sich biogenetisch vom gleichen $C_{13}$-Körper abgeleitet denken (Abb. 1), so daß das Auftreten des zweiten Verbindungstyps erwartet werden konnte, erst recht da die Kawalaktone bereits aus verschiedenen anderen Piperarten der Neuen Welt isoliert worden sind (3),(4).
Die Verwandtschaft von Piper sanctum zu Piper erectum C. DC. und Piper methysticum Forster, die morphologisch offensichtlich ist, konnte somit biochemisch bestätigt werden.

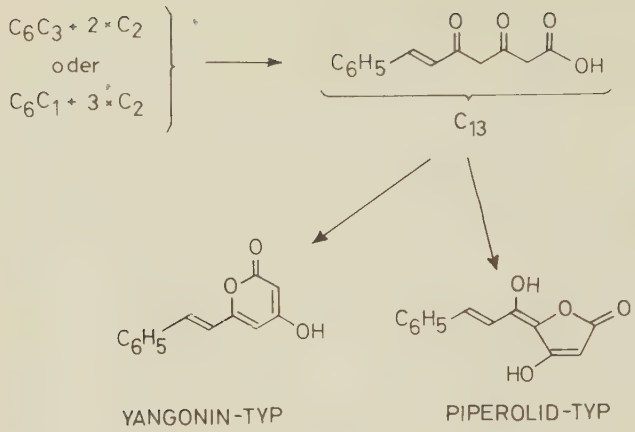



Abb. 1 : Gemeinsame biosynthetische Herkunft der Kawalaktone und Piperolide

Obwohl die Hauptinhaltsstoffe von Piper sanctum bereits isoliert worden waren, schien es reizvoll sich nochmals mit dem lipophilen Extrakt dieser Droge zu beschäftigen, da Begleitstoffe geringer Konzentration, wenn nicht vom Blickpunkt der Wirkstoff-Frage, so doch für die Chemotaxonomie und die Stoffwechselphysiologie von Bedeutung sind. Außerdem sollte ein qualitativer und quantitativer Vergleich zwischen dem lipophilen Extrakt der Wurzel und dem der Sproßachse gezogen werden, um auch auf diesem Wege eventuell weitere Aufschlüsse über die Biosynthese der beiden Stoffgruppen zu erhalten. Gleichzeitig sollte das bisher durchgeführte Analysenverfahren neu überprüft und möglichst verfeinert werden, um auch die Inhaltstoffe geringster Konzentration erfassen zu können.

## 2. L I T E R A T U R T E I L

### 2.1. Botanische Charakterisierung von Piper sanctum (Miq.) Schlecht

Die artenreiche und keineswegs eindeutig abgegrenzte Gattung Piper ist in den Tropen und Subtropen der ganzen Erde beheimatet. Piper sanctum (Miq.) Schlecht ist ein aus Mexiko stammender Strauch (5). Er zeigt einerseits Verwandtschaft zu Piper erectum C. DC. und Piper methysticum hinsichtlich der Blattmerkmale, sowie andererseits zu Piper auritum H. B. K. durch die einzeln den Blättern gegenüberstehenden Ähren (2), (6). Alle diese Spezies gehören zum Pflanzenreich der Neuen Welt.

Die pharmakognostische Beschreibung der untersuchten Droge (blätter- und blütentragende Sproßachsen und Teile von Wurzeln) wird von L. LANGHAMMER gegeben (2). Die 15-25 cm langen ährigen Infloreszenzen stehen einzeln den Blättern gegenüber. Die Zahl der Staubblätter beträgt 3. Die Blattspreite ist abgerundet herzförmig, 12-22 cm lang und 8-18 cm breit und läuft zu einer kurzen Spitze aus. Die Blätter sind häutig und unterseits entlang der Nerven schwach behaart.

Der Querschnitt durch die junge Sproßachse zeigt einen peripheren Leitbündelring und im Mark weitere kollaterale Leitbündel, in deren Phloemteil reichlich Exkret lokalisiert ist. Das getüpfelte Markparenchym wird vom Xylem durch eine wellenförmig verlaufende Markscheide aus Sklerenchymfasern getrennt, nach außen begrenzen Sklerenchymkappen die Siebteile. Die Leitbündel werden von einem Steinzellring umgeben.

Der mächtige Holzkörper der Wurzel ist durch breite Markstrahlen und auffällige Querbinden gegliedert. Die Zellen der Querbinden sind z. T. kollabiert und exkrethaltig. Ungewöhnlich ist die Lage von mächtigen Steinzellnestern außerhalb des Kambiums der Wurzel: die Steinzellnester liegen unmittelbar in der Verlängerung der Markstrahlen des Wurzelholzes und das Kambium erscheint an diesen Stellen wie nach innen "eingedellt", so daß die Steinzellnester wie in die Markstrahlen hineingedrückt wirken.

## 2.2. Stellung der Piperaceen im Pflanzensystem

Die Piperaceen sind die einzige wichtige Familie der Ordnung Piperales, die nach STRASBURGER (7) zusammen mit sechs weiteren Ordnungen (Magnoliales, Aristolochiales, Rafflesiales, Nymphaeales, Ranunculales, Papaverales) die erste Überordnung Magnolianae der Unterklasse Magniliidae (= Polycarpicae) bilden. Als weitere Familien der Piperales erwähnt HEGNAUER (8) noch die Chloranthaceae und Saururaceae, DRAGENDORFF (9) zusätzlich noch die Lacistemaceae und ENGLER (10) die Lactoridaceae. TAKHTAJAN (11) trennt im Gegensatz zu STRASBURGER die Unterklasse Magnoliidae von der Unterklasse Ranunculidae in folgender Weise:

Unterklasse: Magnoliidae
  Überordnung: Magnolianae
    Ordnung: Magnoliales, Laurales, Piperales, Aristolochiales, Rafflesiales, Nymphaeales

Unterklasse: Ranunculidae
  Überordnung: Ranunculanae
    Ordnung: Illiciales, Nelumbonales, Ranunculales, Papaverales, Seraceniales.

a

b

c

Abb. 2 : a) Herbarbogen:
Piper santum (Miq.)
Schlecht aus Mexiko
b) Querschnitt durch die
Sproßachse (mikroskopisches Bild)
c) Wurzel

Früher wurden die Piperales mit den Fagales, Juglandales, Salicales, Urticales, Tricoccae, Proteales, Santalales und Centrospermae zusammengefaßt zu den Archichlamydeae (DRAGENDORFF) bzw. zu den Monochlamydeae (= Apetalae; STRASBURGER), die im Gegensatz zu den Dialypetalae nur ein unscheinbares, hochblattartiges Perigon oder überhaupt kein Perianth besitzen (12). Da zwischen diesen Ordnungen aber keine engeren Beziehungen bestehen, ging die Auffassung über die Stellung der Apetalae häufig stark auseinander.

Innerhalb der Familie werden zwei Hauptgattungen unterschieden: die Gattung Piper (Samenanlage mit 2 Integumenten) mit 700-2000 Arten und die Gattung Peperomia (Samenanlage mit 1 Integument) mit 600-1000 Arten (8). Die anderen Gattungen, nicht allgemein anerkannt, sind klein und gruppieren sich um diese beiden Gattungen (6). Zuweilen wird die Gattung der Peperomia auch als eigene Familie Peperomiaceae (Kennzeichen: keine Nebenblätter) aufgefaßt.

## 2.3. Chemische Merkmale der Piperaceen

Die Gattung Piper liefert eine Reihe von Gewürzen, Genußmitteln und Drogen. Die wichtigsten sind schwarzer und weißer Pfeffer, Cubeben, langer Pfeffer, Kawawurzeln und -stengel, Betel- und Matico-Blätter. Unsere heutigen Kenntnisse über Inhaltstoffe der Piperaceen verdanken wir in erster Linie Untersuchungen an den genannten Produkten. Sie ergaben ätherische Öle mit Mono- und Sesquiterpenen oder Phenylpropanen als Hauptkomponente, Lignane wie z. B. das Cubebin und das Sesamin, scharfschmeckende Amide und weitere alkaloidähnliche Verbindungen sowie die Zimtsäurederivate:

Piperolide, Kawachalkone und Kawalaktone. Diese substituierten 4-Methoxy-6-styryl-$\alpha$-pyrone wurden bisher nur in Piperarten gefunden, die in der Neuen Welt beheimatet sind, vor allem in Piper methysticum Forster bzw. in Piper sanctum (Miq.) Schlecht. Im Holz der Lauracee Aniba firmula Mez. fanden MORS und Mitarb. (13) neben anderen $\alpha$-Pyronen das 5,6-Dehydromethysticin, was die Verwandtschaft dieser beiden Familien nicht nur in anatomisch-morphologischer, sondern auch in chemotaxonomer Hinsicht bestätigt (14). Die ersten Kawalaktone wurden bereits 1860 und 1874 entdeckt: Methysticin 1860 bzw. 1889 (15),(16) und Yangonin 1874 bzw. 1908 (17),(18). Es folgten das Dihydromethysticin 1908 (18), das Kawain und das Dihydrokawain 1930 (19).

Interessant ist die Beobachtung PEINEMANN's (20), daß Piperin führende Pflanzen dieser Familie kein Cubebin (Methysticin, Ottonin) enthalten und umgekehrt solche, welche die letztgenannten stickstoff-freien Verbindungen führen, frei von Piperin sind, mit Ausnahme des Piper Lowong Bl., der Piperin und Pseudocubebin enthält. - Auffallend ist, daß viele Piperaceen-Wurzeln einen die Speichelabsonderung fördernden Stoff enthalten.

Die von HÄNSEL und SAUER (3) aus einer dem Piper methysticum Forster nahe verwandten Piperart Neu-Guineas isolierten Flavanone Dihydrotectochrysin, Dihydrooroxylin A und Alpinetin stellen möglicherweise Artefakte der Chalkone dar. Es kann somit über das Vorkommen flavonoider Verbindungen bei den Piperaceen noch keine eindeutige Aussage gemacht werden.

Ebenso konnten Gerbstoffe, Leucoanthocyane und Triterpene in der Familie der Piperaceen noch nicht nachgewiesen werden.

## 7.4. Eigenschaften von Piper sanctum (Miq.) Schlecht

Piper sanctum (Miq.) Schlecht zählt zu den Heilpflanzen Mexikos und, darf nicht mit dem in Ostindien beheimateten Piper sanctum F. verwechselt werden, bei dem noch nicht eindeutig geklärt ist, ob er tatsächlich zu der Familie der Piperaceen gehört (9). Die Eingeborenen verwenden den Strauch, der von ihnen mit den verschiedensten Namen belegt wird, ebenso wie andere Piperaceen, die z. T. sogar die gleichen Namen tragen, als Stimulans und Lokalanästheticum, gegen Zahnschmerzen, bei Magenerkrankungen und bei Geschlechtskrankheiten. Bei Verdauungsstörungen wird eine Abkochung der Blätter gereicht, die andererseits auch als Gewürz Verwendung findet.

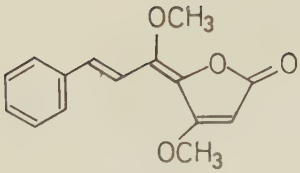
Experimentelle pharmakologische oder klinische Untersuchungen wurden mit dieser Pflanze nicht durchgeführt, wohl aber wurde der Inhaltstoff Piperolid 5-(γ -Methoxy)-cinnamyliden-4-methoxy-but-3-enolid am Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br. geprüft (21). Die Untersuchung an Kleintieren ergab für Piperolid ein neuropharmakologisches Wirkungsspektrum, das zwischen dem der Kawapyrone Kawain und Methysticin einerseits und dem der klassischen "minor"-Tranquilizern Meprobamat und Diazepam andererseits einzuordnen ist. Piperolid besitzt ebenso wie die Kawapyrone eine sichere Schutzwirkung gegen die tödliche Strychninvergiftung und verlängert die Narkosezeit von Äther um etwa 50 %. Eine weitere Gemeinsamkeit mit den Kawapyronen ist die lokalanaesthetische Wirkung von Piperolid. Wahrscheinlich ist auch beim Piperolid wie bei den Kawapyronen die Methoxygruppe am C-4 für die zentralnervöse Wirkung ausschlaggebend (22), was aber für Pipero-

lid infolge Mangels einer entsprechenden Vergleichssubstanz bis jetzt nicht bewiesen werden konnte.
Zur Wirkung der Kawalaktone wäre zu sagen, daß nach der van VEEN'schen Methode (23) die Substanz in emulgierter Form mittels Magensonde den Versuchstieren eingegeben und der Schlafbeginn beobachtet wurde. Dabei zeigte es sich, daß die Wirkung abhängig vom Hydrierungsgrad der Substanz ist; Tetrahydroderivate versetzen bei Dosen von 50-400 mg/kg Tiere in den Schlafzustand, während Verbindungen vom Yangonintyp, also mit den Doppelbindungen $\Delta^5$ und $\Delta^7$, unwirksam sind (24),(25).

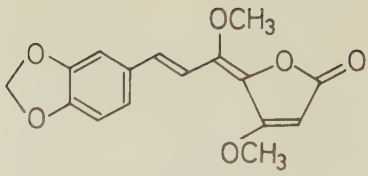
## 2.5. Bisher isolierte und beschriebene Inhaltsstoffe aus Piper sanctum (Miq.) Schlecht

Aus der Wurzel von Piper sanctum (Miq.) Schlecht konnten HÄNSEL und PELTER (26) zunächst zwei lipophile Substanzen isolieren, die sich durch große Kristallisationsfreudigkeit auszeichnen: 5-( $\gamma$ -Methoxy)-cinnamyliden-4-methoxy-but-3-enolid mit der Trivialbezeichnung Piperolid und das dazugehörige Methylendioxyderivat MDO-Piperolid. Als dritte Substanz mit der gleichen Grundkonstitution wurde von den gleichen Autoren nach Auftrennen des Rohextraktes an einer Kohle/Celite-Säule noch das Epoxypiperolid gefunden (27).

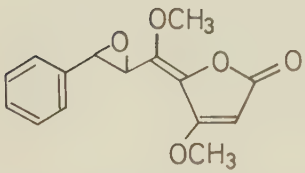
Weitere Isolierungsversuche führten HÄNSEL (2) zum 5,6-Dehydro-7,8-dihydromethysticin und zu einem Sitosterin, das sich im Laufe dieser Arbeit auf Grund von massenspektroskopischen Untersuchungen als ein Gemisch aus Stigmasterin, ß-Sitosterin und Campesterin herausstellte. Auf eine Trennung



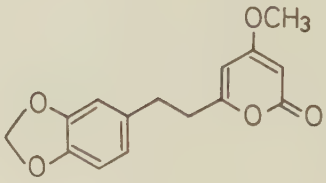

Piperolid



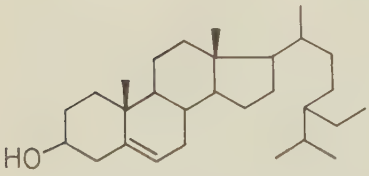

MDO-Piperolid



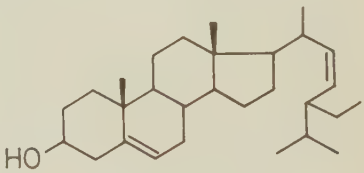

Epoxipiperolid



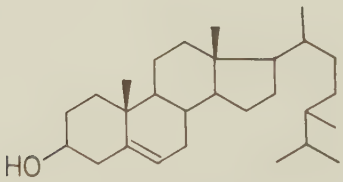

5,6-Dehydro-7,8-dihydro-methysticin




β-Sitosterin




Stigmasterin




Campesterin

Abb. 3 : Bisher isolierte Inhaltsstoffe aus Piper sanctum (Miq.) Schlecht

dieses Stoffgemisches wurde im Rahmen dieser Arbeit verzichtet. Alle bisher isolierten Inhaltsstoffe sind in Abb. 3 und Tab. 1 zusammengefaßt.

| Substanz | Trivialbezeichnung | Schmp. °C | Ausbeute in % (bezogen auf die lufttrockene Wurzel) |
|---|---|---|---|
| S I | MDO-Piperolid | 215 - 220 | 0.2 |
| S II | Piperolid | 110 - 112 | 0.6 |
| S IV | Epoxypiperolid | 114 - 116 | 0.15 |
| S V | 5,6-Dehydro-7,8-dihydromethysticin | 157 | 0.15 |
| S VI | Stigmasterin<br>ß-Sitosterin<br>Campesterin | 152 - 156 | 0.15 |

Tab. 1 : Bisher isolierte Inhaltsstoffe aus Piper sanctum (Miq.) Schlecht

## 2.6. Synthese der Kawalaktone

In Anbetracht der interessanten pharmakologischen Eigenschaften der Kawapyrone sind mehrere Verfahren entwickelt worden, um solche Substanzen auch auf synthetischem Wege herzustellen. Die wichtigsten Synthesen sind unter Abb. 4 bis Abb. 8 wiedergegeben. Wie aus diesen Abbildungen ersichtlich, sind grundsätzlich zwei verschiedene Reaktionswege zu unterscheiden. J. D. BU'LOCK (28) geht von der Dehydroacetsäure und dem Benzaldehyd aus, während FOWLER (29), KOSTERMANS (30) und HARRIS (31) wie schon früher BORSCHE (32) den Zimtaldehyd bzw. dessen Derivate mit der bereits vorgebildeten Doppelbindung $\Delta^7$ als Ausgangssubstanz wählen.

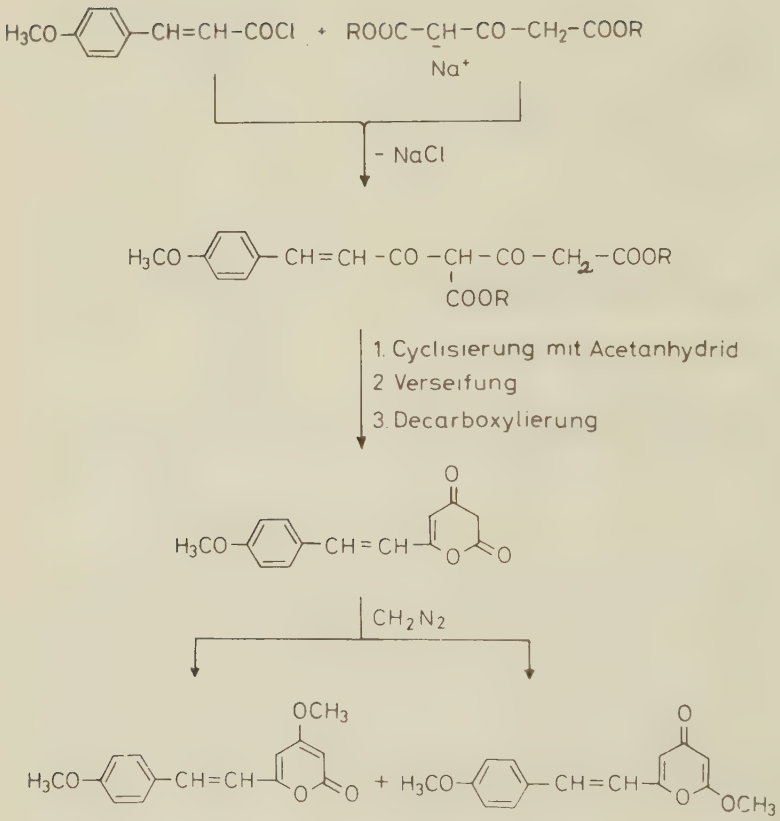



Abb. 4 : Synthese des Yangonin nach W. BORSCHE (1929)

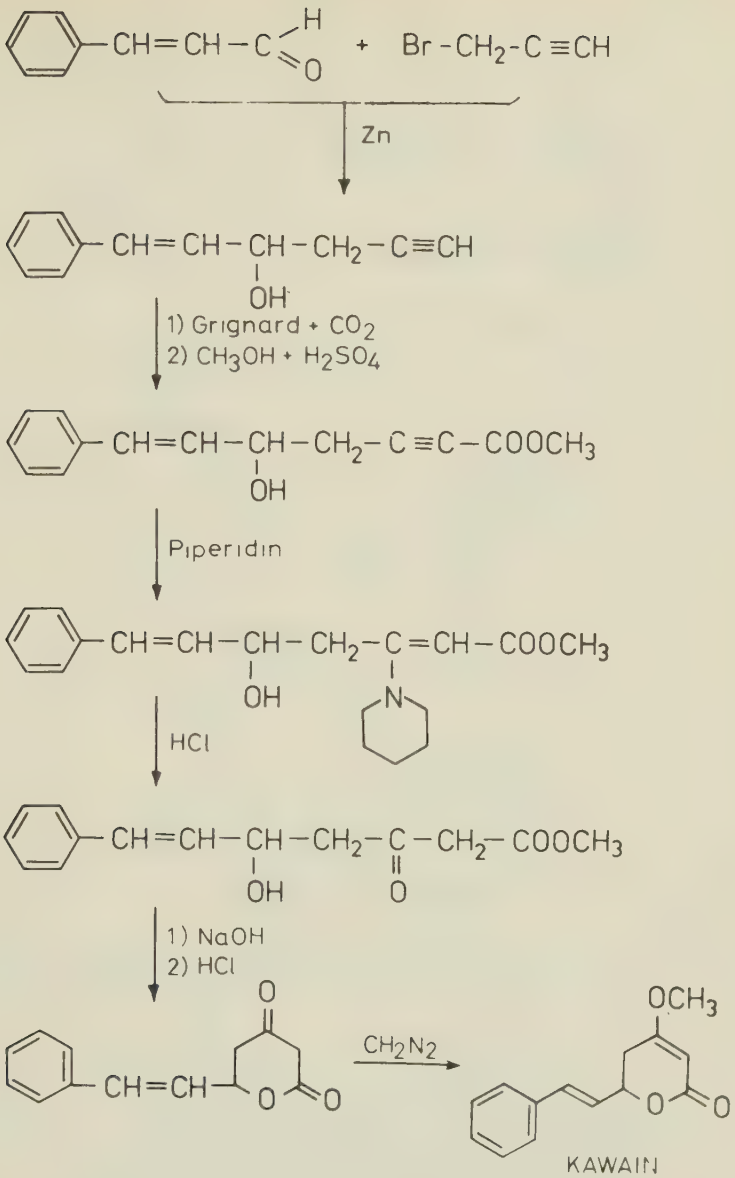



Abb. 5 : Synthese von (±)-Kawain nach E. M. F. FOWLER und H. B. HENBEST (1950)

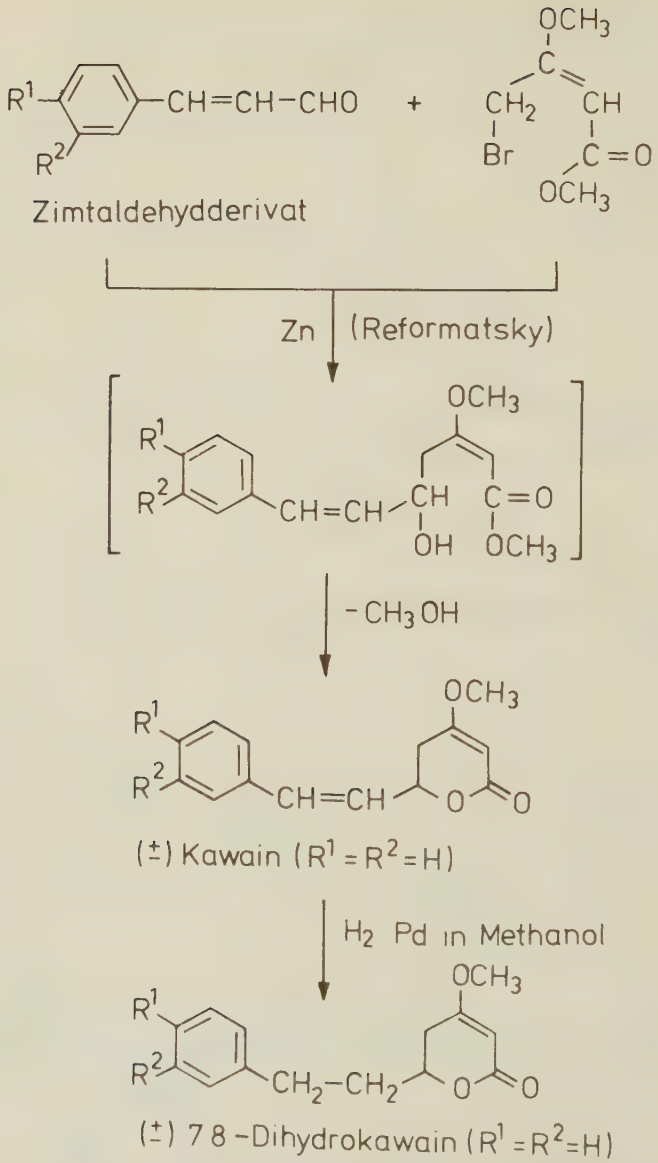



Abb. 6 : Synthese von (±)-Kawain nach D. KOSTERMANS (1950) und von (±)-7,8-Dihydrokawain nach M. W. KLOHS (1959) (33)

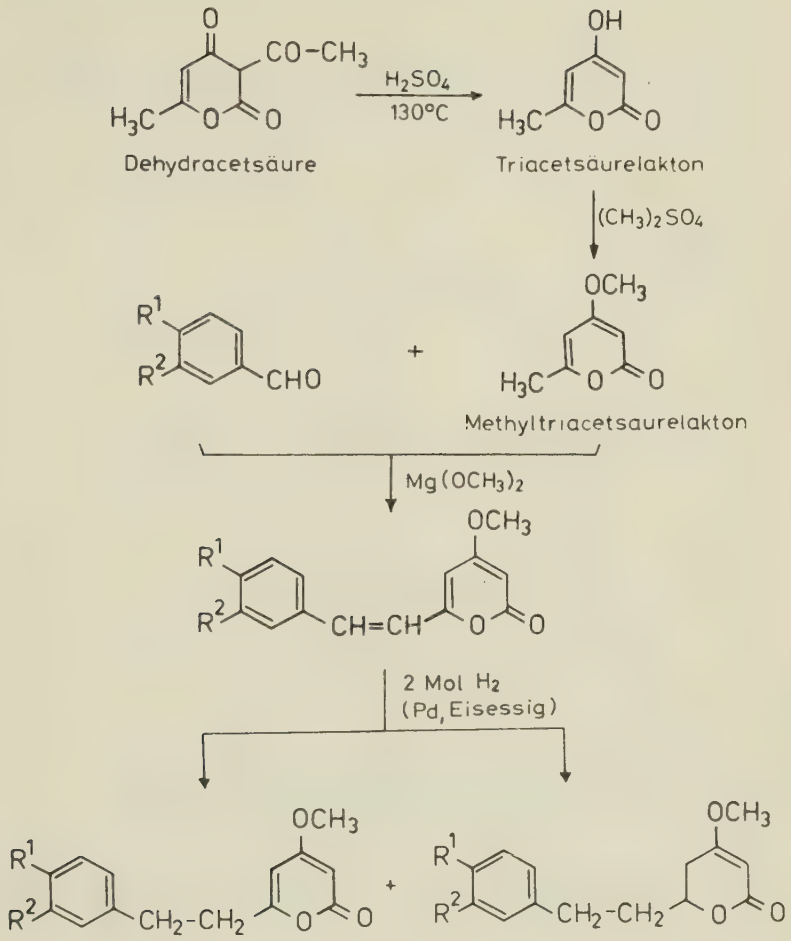



Abb. 7 : Synthese der Kawalaktone vom Yangonintyp nach J. D. BU'LOCK und H. G. SMITH (1960) und Reduktion des Syntheseproduktes nach R. HÄNSEL zum Tetrahydroderivat

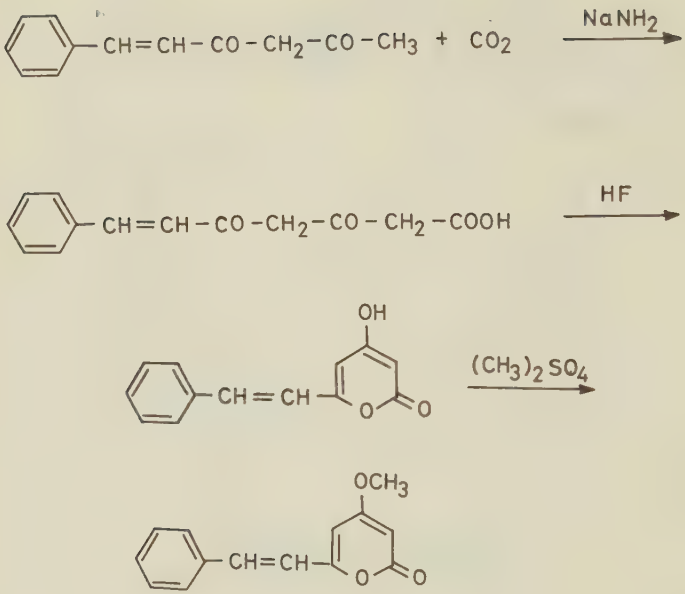
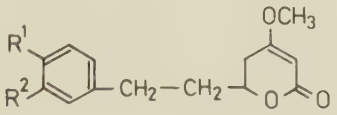


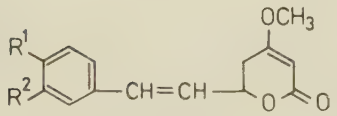

Abb. 8 : Synthese des 5,6-Dehydrokawain nach T. M. HARRIS (1968)

## 2.7. Katalytische Hydrierung der Kawalaktone

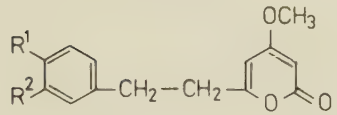
Betrachtet man die Kawalaktone in ihrer Gesamtheit, so kann man sie nach ihrem Hydrierungsgrad in vier Hauptgruppen einteilen (Abb. 9). Daß sich die einzelnen Gruppen durch die Art und Zahl der Substituenten weiter unterscheiden, sei hier nicht weiter berücksichtigt.



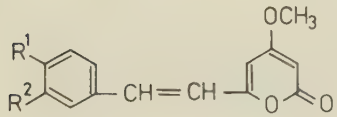

Gruppe I




Gruppe II




Gruppe III




Gruppe IV

Abb. 9 : Die vier verschiedenen Hydrierungsgrade der Kawalaktone

Diese vier Gruppen zeigen, daß alle denkbaren Hydrierungsstufen in der Natur mit einer Ausnahme verwirklicht sind: die Doppelbindung $\Delta^3$ bleibt stets erhalten. Chemische Gründe sprechen für die Sonderstellung dieser Doppelbindung. Es handelt sich um die Doppelbindung eines ß-Methoxy-crotonsäureesters, also um eine polarisierte Enolätherbindung, deren

Hydrierung nur unter sehr viel Mühe zu erzwingen ist, wie bereits im Jahre 1929 BORSCHE und PEITZSCH (34) für den Fall der Tetrahydromethysticinsäure beschrieben haben (Abb. 10).

Während die unwirksamen durchkonjugierten Verbindungen wie das Yangonin leicht synthetisiert werden können (s. 2.6.), sind die Tetrahydro-Derivate schwerer zugänglich. BORSCHE und Mitarbeiter verwendeten schon früher kolloidales Palladium als Katalysator und arbeiteten in methanolischer Lösung, wobei allerdings Ringöffnung eintrat (Abb. 10).

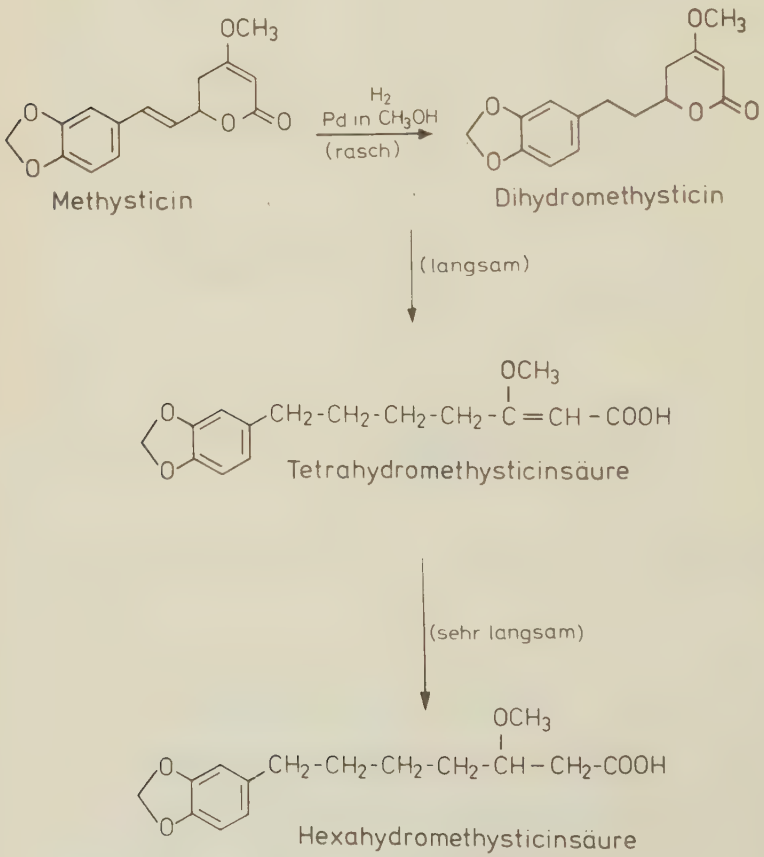



Abb. 10 : Verlauf der katalytischen Hydrierung nach W. BORSCHE und W. PEITZSCH (1929)

Um diese Ringöffnung zu vermeiden verwendete HÄNSEL (35) nun statt Methanol Eisessig und unterbrach den Hydrierungsvorgang nach einer $H_2$-Aufnahme von 1.7 mol. Nach der üblichen Aufbereitung des Ansatzes erhielt er ein kristallines Gemisch aus dem 7,8-Dihydro- und aus dem gesuchten 5,6,7,8-Tetrahydroderivat, das säulenchromatographisch über Aktivkohle getrennt wurde (Abb. 11).

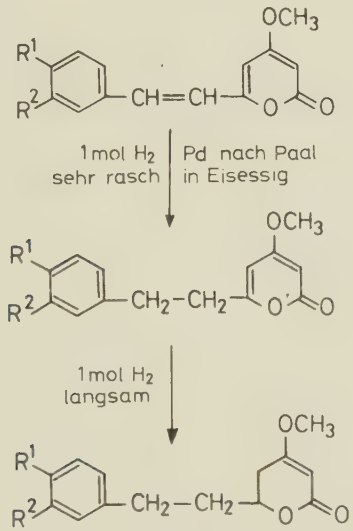



Abb. 11 : Katalytische Hydrierung der 6-Styryl-$\alpha$-pyrone zu 6-Phenyl-5,6-dihydro-$\alpha$-pyronen nach F. WERNY und R. HÄNSEL (36)

# EIGENE UNTERSUCHUNGEN

## H A U P T T E I L

## 3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### H A U P T T E I L

### 3.1. Chromatographische Bestimmung und Isolierung lipophiler Inhaltsstoffe von Piper sanctum (Miq.) Schlecht

Zu Beginn der Untersuchung wurde der Methylenchloridextrakt aus den Wurzeln von Piper sanctum (Miq.) Schlecht mit dem Methylenchloridextrakt aus den Sproßteilen verglichen. Zu diesem Zweck wurde die Droge erschöpfend mit Methylenchlorid extrahiert, der Extrakt wurde am Rotationsverdampfer eingeengt, mit Methanol aufgenommen und 10 Tage in den Kühlschrank gestellt. Während beim Wurzelextrakt ein großer Teil der Substanzen S I und S II auskristallisierte, fiel beim Sproßextrakt nur eine geringe Menge körnigen Niederschlages aus. Beim Wurzelextrakt wurde das Kristallgemisch abgetrennt, beim Sproßextrakt durch Erwärmen wieder in Lösung gebracht. Es folgte eine zweidimensionale DC-Prüfung (Abb. 12) beider Extrakte. Nach Vertreiben des Methanols und Verreiben der Extrakte mit Celite (1:1) verblieb ein streufähiges Pulver, das zur Grobtrennung auf Säulen mit Kieselgel gebracht und mit Benzol / Aceton 9:1 eluiert wurde. Nach DC einheitliche Fraktionen wurden vereinigt und zur Feintrennung auf weitere Säulen gegeben. Der Vergleich der Chromatogramme der Gesamtextrakte unter Zuhilfenahme der Chromatogramme einzelner Fraktionen zeigt, daß die Substanzen S III, S V und S VII (Kawalaktone) nur in der Wurzel vorhanden sind. S I, S II und S IV (Piperolide) sind sowohl in der Wurzel als auch im Sproß reichlich vorhanden, während S VI, ein Gemisch verschiedener Sterine, im Sproß in geringerer Konzentration vorliegt als in der Wurzel.

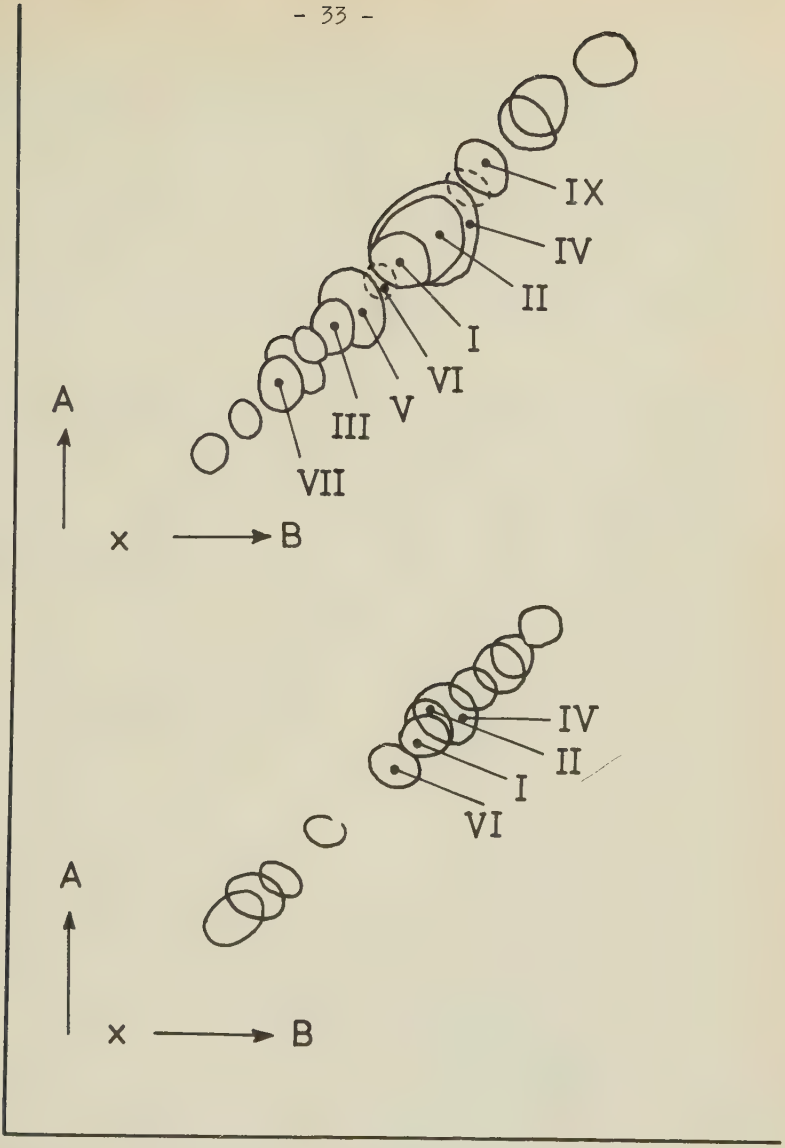



Abb. 12 : Zweidimensionales Dünnschichtchromatogramm des Methylenchloridextraktes aus der Wurzel (oben) und aus dem Sproß (unten) von Piper sanctum (Benzol / Aceton 8:2, jede Richtung 2 x entwickelt)

Schließlich wurde eine weitere, nur in sehr geringen Mengen vorkommende Substanz aus der Wurzel - nicht aber aus dem Sproß - isoliert (S IX). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird die Konstitutionsaufklärung dieser Substanz nicht beschrieben. Es handelt sich, wie inzwischen bewiesen werden konnte, um eines der vier stereoisomeren 5-Acetoxy-6-Methoxykawaine (62).

Beide Extrakte differieren im Bereich der hydrophilen Substanzen auffallend. Während beim Wurzelextrakt mengenmäßig der Schwerpunkt bei den Fraktionen $F_3$-$F_6$ liegt, finden sich beim Sproßextrakt in den Fraktionen $F_5$-$F_8$ stärker hydrophile Inhaltsstoffe. Die Bearbeitung dieser Fraktionen muß späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

| Substanz | Bezeichnung | Ausbeute (%) | |
|---|---|---|---|
| | | Wurzel | Sproß |
| S I | MDO-Piperolid | 0.2 | 0.08 |
| S II | Piperolid | 0.6 | 0.25 |
| S III | 5-Methoxy-5,6-dehydromethysticin | 0.001 | - |
| S IV | Epoxypiperolid | 0.15 | 0.04 |
| S V | 5,6-Dehydro-7,8-dihydromethysticin | 0.15 | - |
| S VI | Stigmasterin<br>ß-Sitosterin<br>Campesterin | 0.15 | 0.03 |
| S VII | 11-Methoxy-12-noryangonin | 0.001 | - |
| S IX | 5-Acetoxy-6-methoxykawain | ca 0.001 | - |

Tab. 2 : Vergleich zwischen Wurzel- und Sproßextrakt (Ausbeute bezogen auf die lufttrockene Droge)

| Substanz | Schmp. °C | hRf*1) | Tageslicht | kw-UV | lw-UV | Detektion*2) | Farbreaktion mit $H_2SO_4$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| S I | 215 - 220 | 57 | gelb | gelb | gelb | unverändert | rot |
| S II | 110 - 111 | 58 | gelb | dunkel | dunkel | unverändert | gelb |
| S III | 255 - 261 | 40 | gelb | dunkel | gelb-grüne Fluores. | unverändert | gelbbraun |
| S IV | 114 - 116 | 59 | — | dunkel | — | orange | hellgelb |
| S V | 153 - 157 | 49 | — | dunkel | — | unverändert | dunkelviolett |
| S VI | 152 - 156 | 52 | — | — | — | violett | verkohlt (untypisch) |
| S VII | 218 - 219 | 31 | gelb | dunkel | gelbe Fluores. | unverändert | gelb |
| S IX | 187 - 188 | 69 | — | dunkel | — | rot | gelborange |

*1) Rf-Wert x 100; bestimmt in Benzol / Aceton 8:2, 2 x entwickelt
*2) Detektion: s. Allgemeine Angaben 4.11.

Tab. 3 : Vergleichende Übersicht über die Eigenschaften und Rf-Werte der isolierten Substanzen

## 3.2. Verbindung S III

### 3.2.1. Isolierung von S III

Zur Isolierung von S III wurden zunächst zwei verschiedene chromatographische Methoden herangezogen: einmal die auch bei den anderen Substanzen bewährte Adsorptionschromatographie, zum anderen die Verteilungschromatographie (s. 4.2.6 b). Dieses zweite Verfahren hatte den Vorteil, daß die Fraktionen mit S III andere Begleitkomponenten enthielten, die sich bei der anschließenden Feintrennung sauberer von S III abtrennen ließen, als bei der unter 4.2.3. beschriebenen Adsorptionschromatographie. Der Nachteil dieser Methode liegt allerdings in dem ungleich höheren Zeit- und Arbeitsaufwand.
Die Feintrennung erfolgte in beiden Fällen an Säulen mit Kieselgel als Absorbens und Benzol / Aceton als Elutionsmittel. Die Fraktionen, die S III enthielten, kristallisierten nach Vertreiben des Elutionsmittels und nach Aufnehmen mit Äthanol als gelbe Kristalle. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus heißem Aceton lag die Substanz S III als gelbe Nadeln vor, die bei 255-261°C unter Zersetzung schmolzen.

### 3.2.2. Identifizierung der Verbindung S III

Spektroskopische Methoden

Es wurden das UV-, IR-, NMR- und das Massenspektrum angefertigt. Das NMR- und das UV-Spektrum von 5,6-Dehydromethysticin wurden zum Vergleich herangezogen.

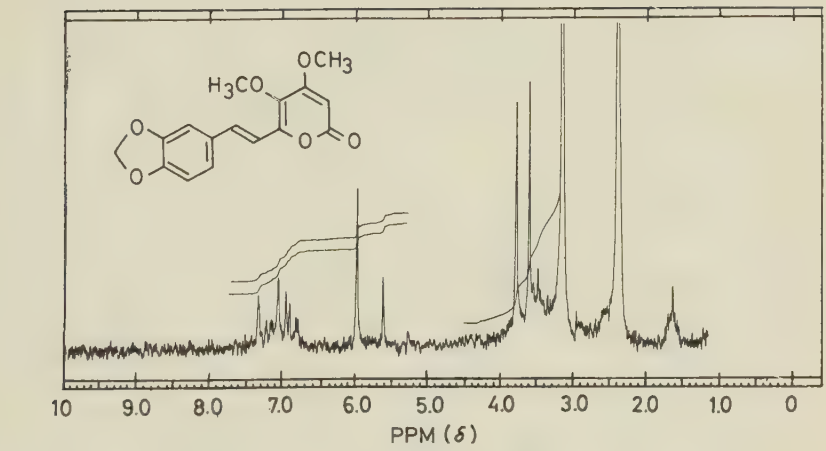



Abb. 13 : 60-MHz-NMR-Spektrum der Verbindung S III (in DMSO $d_6$)

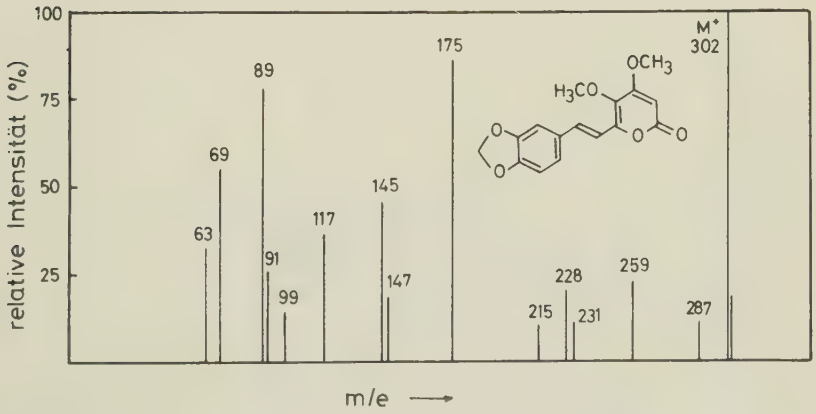



Abb. 14 : Massenspektrum der Verbindung S III

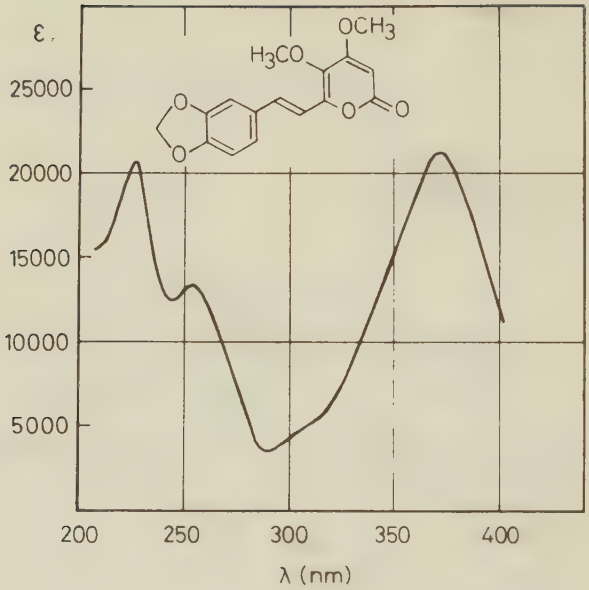



Abb. 15 : UV-Spektrum der Verbindung S III

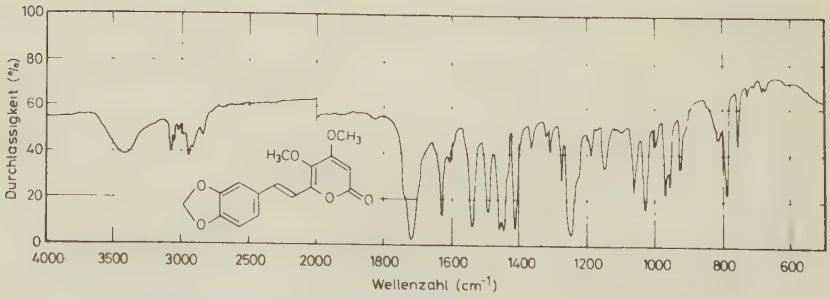



Abb. 16 : IR-Spektrum der Verbindung S III (KBr-Preßling)

Aus dem hochauflösenden MS ergibt sich eine Mol.-Masse von 302.0793, was der Summenformel $C_{16}H_{14}O_6$ und 10 Doppelbindungsäquivalenten entspricht. Die sechs Sauerstoffatome lassen sich leicht einer Dioxymethylengruppe (NMR [in DMSO]: $\tau$ = 4.06 s,2H ; IR [KBr]:920, 2780 $cm^{-1}$), zwei Methoxygruppen (NMR: $\tau$ = 6.35 s, 3H , 6.15 s, 3H ) und einem $\alpha$-Pyronring (IR:1700, 1810 $cm^{-1}$) zuordnen (37),(38),(39).

Das UV-Spektrum ist, abgesehen von geringer bathochromer Verschiebung, deckungsgleich mit dem Spektrum des früher synthetisierten und vermessenen 5,6-Dehydromethysticin (40), (Abb. 17 und Tab. 4).

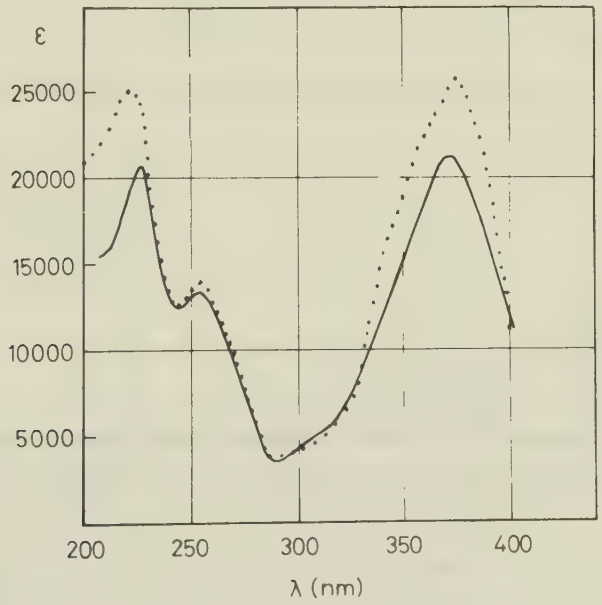



Abb. 17 : UV-Spektrum der Verbindung S III (-) und UV-Spektrum von 5,6-Dehydromethysticin (...).

| | 5,6-Dehydromethysticin | S III |
|---|---|---|
| $\lambda$ max. ($\varepsilon$) | 222 (25600)<br>250 (13900)<br>361 (25300) | 225 (20550)<br>255 (13250)<br>370 (21200) |

Tab. 4 : Vergleich der UV-Maxima von S III und 5,6-Dehydromethysticin

Somit konnte es sich bei der Substanz S III nur um ein 5,6-Dehydromethysticin mit einer zusätzlichen Methoxylgruppe im Molekül handeln. Die Stellung der $OCH_3$-Gruppe ergibt sich aus dem Vergleich der beiden NMR-Spektren von S III und 5,6-Dehydromethysticin (Abb. 13 und Abb. 18).

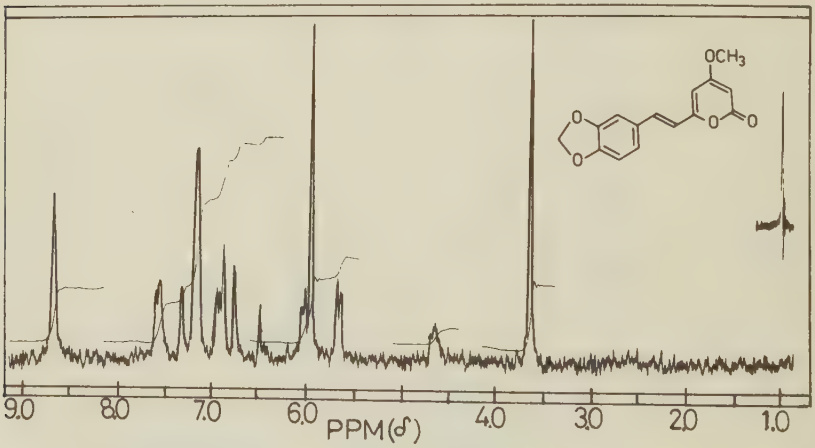



Abb. 18 : 60-MHz-NMR-Spektrum von 5,6-Dehydromethysticin (in Pyridin $d_5$; Substanz sehr schwer löslich; Peak bei $\tau$ = 5.4 durch Verunreinigung)

Das bei 5,6-Dehydromethysticin vorhandene Dublett bei $\tau$ = 4.3 (1 Proton, gekoppelt mit J≈3Hz an ein Dublett bei $\tau$ = 3.9, das durch "long-range"-Kopplung allerdings weiter aufgespalten ist), ist bei S III ersetzt durch ein Singulett bei $\tau$ = 4.35 (1 Proton), wobei nach BEAK und ABELSON (41) das Signal bei tieferem Feld dem Proton am C-5, das bei höherem Feld dem C-3 des Pyronringes zuzuordnen ist. Somit ergibt sich, daß bei S III nur das Atom C-5 den zusätzlichen $OCH_3$-Substituenten tragen kann.

Betrachtet man jetzt noch einmal das MS-Spektrum von S III, läßt sich ein Fragmentierungsschema wie in Abb. 19 aufstellen, wobei die durch metastabile Peaks bestätigten Bruchstückbildungen durch m* gekennzeichnet sind.

Die Abspaltung von Kohlenmonoxid unter Ringverkleinerung wird generell bei allen $\alpha$-Pyronen beobachtet (42), eine zweimalige Abspaltung von 28 ME bei den Cumarinen und Kawalaktonen des Yangonintyps. Die Entstehung des sehr intensiven Peaks bei m/e 175 ist nicht eindeutig geklärt, da in den aufgenommenen Spektren kein metastabiler Peak einen Hinweis für diese Fragmentierung gibt. Aber in Anlehnung an PORTER und BALDAS (43) wäre eine Abspaltung aus m/e 259 denkbar. Spekulativ bleiben auch einige Formelbilder, so die von m/e 231 und m/e 145. Der Peak der MZ 274 tritt nur mit äußerst geringer Intensität auf, da aber der metastabile Peak und der entsprechende Peak bei vergleichbaren Substanzen intensiv vorhanden sind (44), kann man vermuten, daß dieses Bruchstück aufgrund des zusätzlichen Substituenten nicht beständig ist.

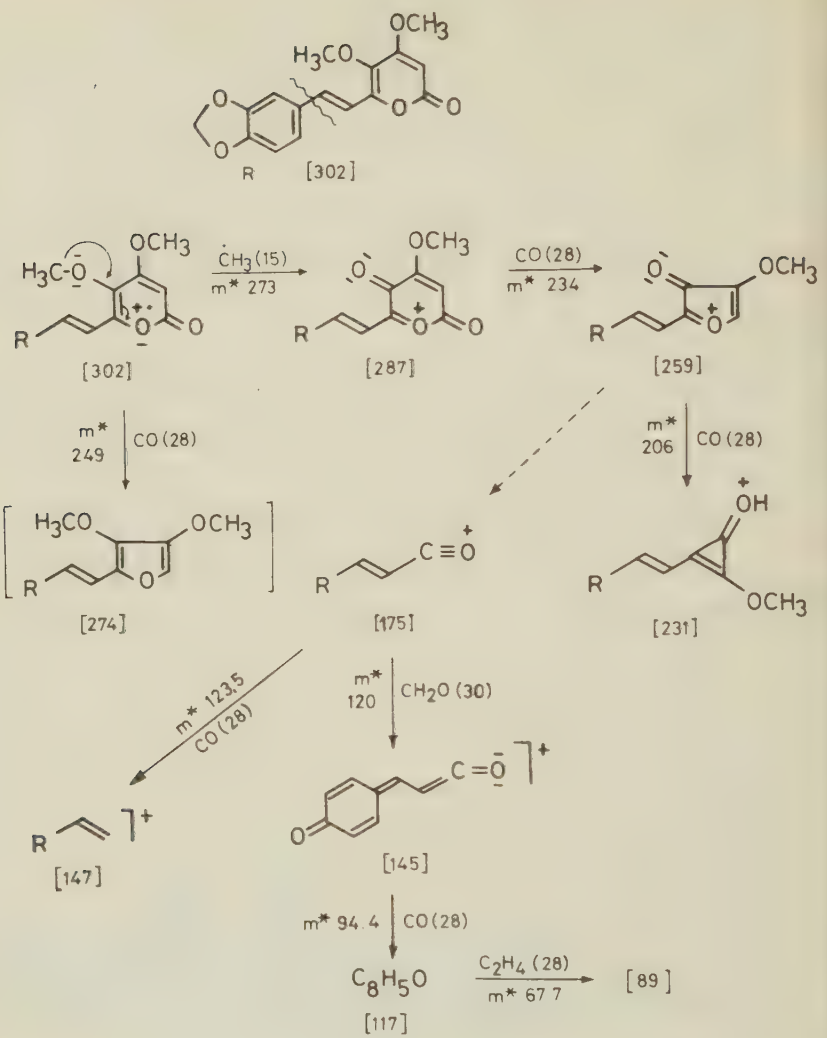



Abb. 19 : Massenspektroskopisches Verhalten von S III

3.2.3. Hydrierung von S III und Spektrendiskussion des Hydrierungsproduktes

Die Substanz S III wurde in Essigester mit PdC (10 proz.) als Katalysator 3 h hydriert (s. 4.2.9.), wobei 1 mol $H_2$ rasch, ein weiteres mol $H_2$ langsam aufgenommen wurde (Abb. 20). Von dem Hydrierungsprodukt wurden Spektren angefertigt, die Mutterlauge wurde DC-geprüft.

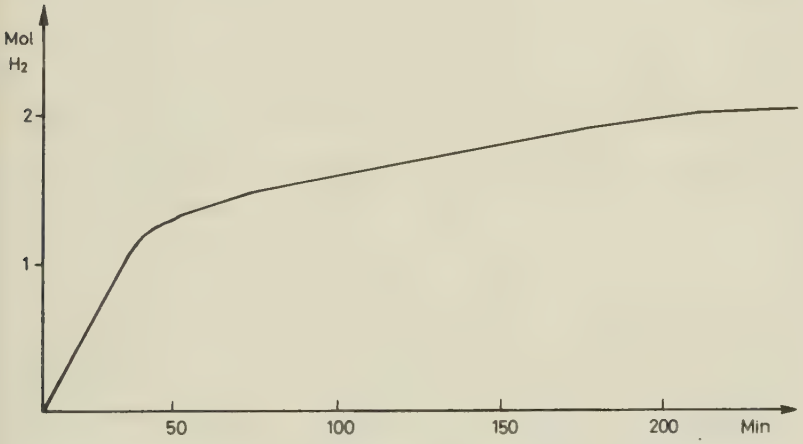
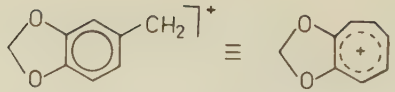



Abb. 20 : Hydrierungsverlauf von S III

Das Massenspektrum (m/e = 306, $M^+$) bestätigt die Aufnahme von 2 mol $H_2$. Diese wurden zur Hydrierung der Doppelbindungen $\Delta^5$ und $\Delta^7$ benötigt, während $\Delta^3$ unter den angewandten Bedingungen unangefochten bleibt (s. 2.7.). Somit mußte bei Richtigkeit der Struktur von S III das 5-Methoxy-7,8-dihydromethysticin entstanden sein. Der Basispeak bei der MZ 135 zeigt, daß durch Spaltung von C-7/C-8 das energetisch günstige Methylendioxytropyliumion entsteht.



[135]

Bemerkenswert ist die Spaltung der Dioxymethylengruppe aus dem Methylendioxytropyliumion (m* = 81.7), die ganz in Übereinstimmung mit der früheren Beobachtung am 3,4-Methylendioxyphenylaceton (64) steht. PAILER (44) jedoch konnte eine analoge Abspaltung beim 7,8-Dihydromethysticin nicht feststellen. Der Peak mit der nächst geringeren Intensität (72 %) ist der der MZ 148. Er dürfte aus dem Molekülion durch die normalerweise bei gesättigten Laktonen auftretende Spaltung von C-6/C-7 (m/e = 149) und durch Wanderung eines Protons entstanden sein, wobei der $\alpha$-Pyronrest nach Abspaltung von $CO_2$ bei der MZ 113 erscheint. Nach ACHENBACH (45) gehört zu der Reihe m/e = 135 und m/e = 148 noch m/e = 161, jeweils eine Differenz von 13 ME entsprechend einer CH-Gruppe. Dabei kommt es zu der Entstehung von m/e = 161 durch einen noch nicht ersichtlichen Mechanismus, zu dem es formal der Spaltung zweier Bindungen an einem C-Atom und der Übertragung eines Protons bedarf (44). Zu klären bleibt noch, ob als Hydrierungsprodukt das 5,6-cis- oder das 5,6-trans-5-Methoxy-7,8-dihydromethysticin entstanden ist. Außer durch den Vergleich mit den synthetischen Produkten läßt sich diese Frage allein mit Hilfe des NMR-Spektrums klären. Man erkennt bei $\tau$ = 4.76 das olefinische Proton am C-3 und bei $\tau$ = 6.2 das Singulett der Methoxylgruppe am C-4, sowie bei $\tau$ = 6.55 das Singulett von 5-$OCH_3$. Das Multiplett bei $\tau$ = 6.5 (Schwerpunkt) ist dem Proton am C-5 zuzuordnen, während das Multiplett bei niedrigerem Feld, das bei

$\tau$ = 5.8 zentriert ist, dem Proton am C-6 zugeordnet werden muß. Die geringe Kopplungskonstante zwischen den Protonen 5-H und 6-H von $J_{5,6}$ = 3 Hz schließt eine Transanordnung aus (46). Wie wir später noch im Vergleich der Massenspektren des hydrierten S III mit den synthetisierten Produkten 5,6-cis- und 5,6-trans-5-Methoxy-7,8-dihydromethysticin sehen werden, ist das von HÄNSEL (47) nur beim 5,6-cis-Dihydrokawain-5-ol gefundene und deshalb für die cis-Verbindung als "stereospezifische" Bruchstück bezeichnete Ion m/e = 117 anscheinend nicht auf analoge Verbindungen übertragbar. Sowohl das 5,6-cis- als auch das 5,6-trans-5-Methoxy-7,8-dihydromethysticin zeigen den entsprechenden Peak m/e = 161 mit einer Intensität von 11 %.

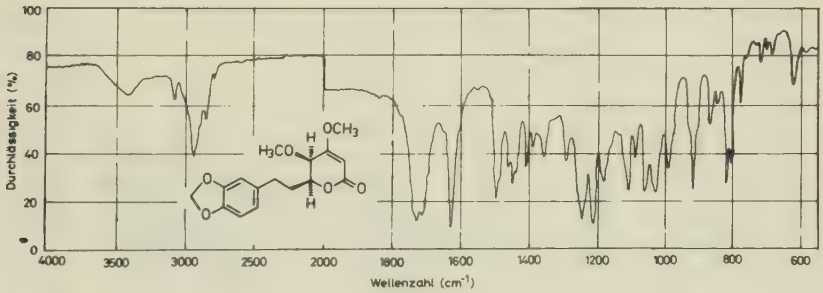



Abb. 21 : IR-Spektrum der hydrierten Verbindung S III (KBr-Preßling)

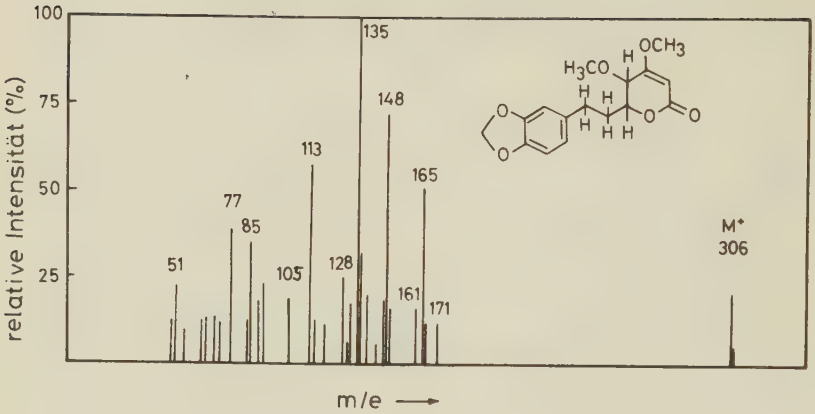



Abb. 22 : Massenspektrum der hydrierten Verbindung S III

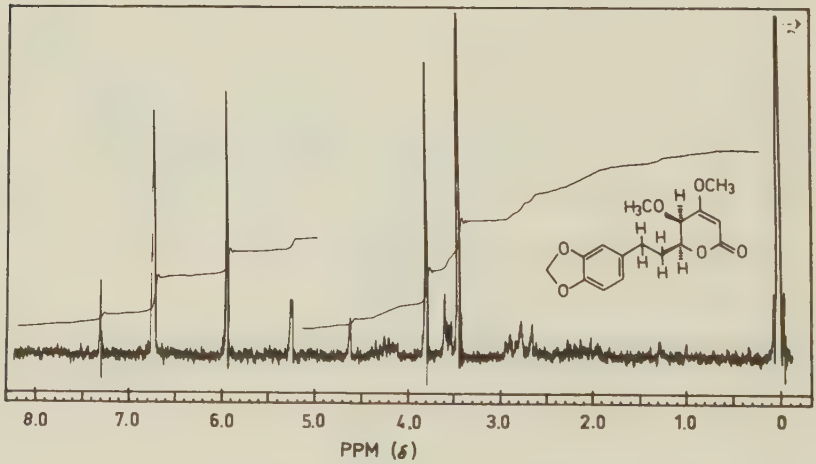



Abb. 23 : 60-MHz-NMR-Spektrum der hydrierten Verbindung S III (in $CDCl_3$)

3.2.4. Synthese von S III und S III-hydriert

Als Ausgangsbasis für die Synthese wurde natürliches Methysticin verwendet, das zuvor aus Piper methysticum Forster isoliert wurde. Die einzelnen Stufen der Synthese sind in Abb. 24 dargestellt. Zur Identifizierung der Zwischenprodukte wurden jeweils die verschiedenen Spektren und eine C,H-Analyse angefertigt (s. 4.2.11.), nachfolgend sind die wichtigsten Reaktionsschritte aufgeführt.

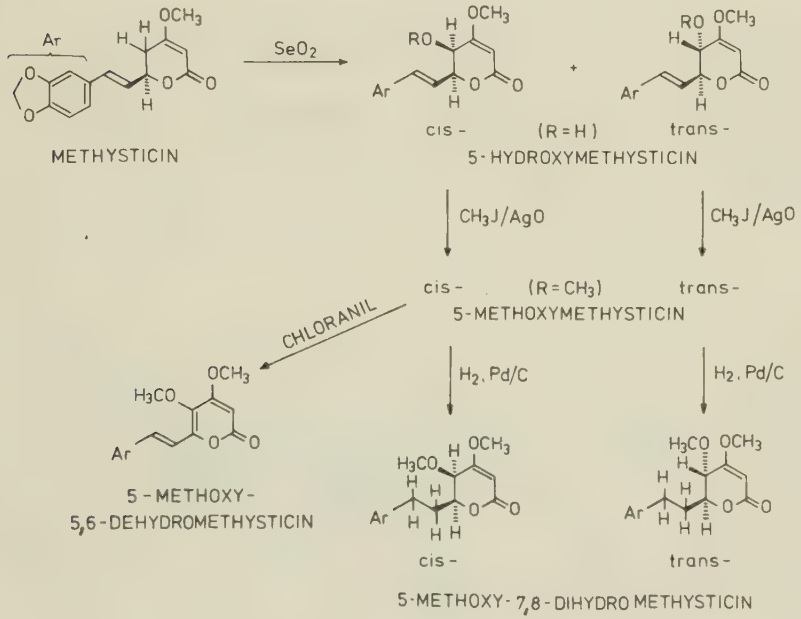



Abb. 24 : Synthese von 5-Methoxy-5,6-dehydromethysticin (S III) und 5-Methoxy-7,8-dihydromethysticin (S III hydr.)

Für 5,6-cis- und 5,6-trans-5-Hydroxymethysticin (MS: m/e = 290, $M^+$) sind im IR folgende Banden charakteristisch: 3300 $cm^{-1}$ (OH, breit), 1665-1685 bzw. 1675-1700 $cm^{-1}$ (Dihydro-$\alpha$-pyrone), 1625 $cm^{-1}$ ($\Delta^3$), 970 $cm^{-1}$ (CH=CH, trans-Styryl) und 935 bzw. 940 $cm^{-1}$ ($OCH_2O$, aromat.). Daß es sich um die cis- bzw. trans-Verbindung handelt, ergibt sich aus den Kopplungskonstanten im NMR: bei der cis-Verbindung beträgt $J_{5,6}$ = 3 Hz, bei der trans-Verbindung $J_{5,6}$ = 7 Hz.

Nach der Methylierung von 5-OH mit $CH_3J$/AgO liegt der Molekülpeak im MS bei m/e = 304, die OH-Bande im IR ist verschwunden. Statt des Singuletts bei $\tau$ = 6.9 (OH) erscheint ein Signal bei $\tau$ = 6.5, das gemäß Integration 3 Protonen entspricht (s, 5-$OCH_3$).

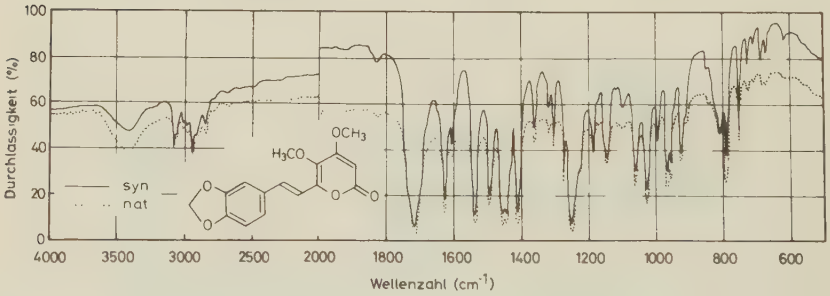



Abb. 25 : IR-Überlagerungsspektrum der Verbindung S III mit 5-Methoxy-5,6-dehydromethysticin (KBr-Preßling)

Vom 5,6-cis-5-Methoxymethysticin ausgehend kommt man einmal durch Behandlung mit Chloranil zum 5-Methoxy-5,6-dehydromethysticin (in allen Eigenschaften identisch mit S III, Abb. 25), zum anderen durch Reduktion mit Pd-Kohle als Katalysator (in Essigester) zu der Verbindung 5,6-cis-5-Methoxy-7,8-dihydromethysticin. Die isomere trans-Verbindung wird analog der cis-Verbindung synthetisiert. Beim Vergleich dieser synthetischen Substanzen mit dem natürlichen Tetrahydroderivat (S III hydr.) zeigt sich, daß bei der Hydrierung von S III tatsächlich bevorzugt das cis-Derivat entsteht, wenn auch geringe Mengen der trans-Verbindung in den Mutterlaugen (DC-geprüft) nachgewiesen werden konnten. Die Schmelzpunkte zeigen erwartungsgemäß geringe Differenzen, da zur Darstellung der synthetischen Vergleichssubstanzen von natürlichem Methysticin mit asymmetrischen C-6 ausgegangen wird.

| | S III-hydr. (nat.) | 5-Methoxy-7,8-dihydromethysticin(synth.) 5,6-cis-Derivat | 5,6-trans-Derivat |
|---|---|---|---|
| Schmp.: | 128°C | 121-122°C | 53-55°C |
| hRf *) | 49 (Kristalle)<br>49/52 (Mutterl.) | 49 | 52 |
| MS: m/e<br>(rel. Int.) | 306 (20, $M^+$)<br>135 (100)<br>161 (18) | 306 (31, $M^+$)<br>135 (100)<br>161 (11) | 306 (28, $M^+$)<br>135 (100)<br>161 (11) |
| NMR: [$\tau$] | 6.55 (s, 5-$OCH_3$)<br>6.4-6.61 (m, 5-H)<br>5.65-6.0 (m, 6-H)<br>$J_{5,6}$ = 3 Hz | 6.58 (s, 5-$OCH_3$)<br>6.46-6.5 (d, 5-H)<br>5.7-5.9 (m, 6-H)<br>$J_{5,6}$ = 3 Hz | 6.54 (s, 5-$OCH_3$)<br>6.3-6.38 (d, 5-H)<br>5.55-5.78 (m, 6-H)<br>$J_{5,6}$ = 7 Hz |
| IR ($cm^{-1}$) | 2790 ($OCH_2O$)<br>1710 (Lakton, $\alpha,\beta$-ungesättigt<br>1630 ($\Delta^3$) | 2790 ($OCH_2O$)<br>1710 (Lakton, $\alpha,\beta$-ungesättigt<br>1630 ($\Delta^3$) | 2780 ($OCH_2O$)<br>1705 (Lakton, $\alpha,\beta$-ungesättigt<br>1635 ($\Delta^3$) |

*) hRf = Rf-Wert x 100, Fließmittel: Benzol / Aceton 8:2, 2 x entwickelt

Tab. 5 : Vergleichende Übersicht von natürlichem S III-hydriert mit den synthetischen Substanzen 5,6-cis- und 5,6-trans-5-Methoxy-7,8-dihydromethystecin

## 3.3. Verbindung S VII

### 3.3.1. Isolierung von S VII

Wie im Versuchsteil näher beschrieben, konnte die Substanz S VII durch Trennung des Wurzelrohextraktes über Säulen mit Kieselgel als Absorbens und Benzol / Aceton 9:1 bzw. 8:2 als Elutionsmittel gewonnen werden. Sie kristallisiert aus Chloroform / Äthanol in Form gelber Balken und schmilzt bei 218-219°C.

### 3.3.2. Identifizierung der Verbindung S VII

Spektroskopische Methoden

Zur Identifizierung der Substanz S VII wurden UV-, IR-, NMR- und das Massenspektrum angefertigt. Aus dem Massenspektrum ergibt sich ein Molekulargewicht von 274. Die Elementaranalyse erbrachte folgendes Ergebnis:

C 64.68 % , H 4.88 % .

Daraus ließ sich die Summenformel $C_{15}H_{14}O_5$ (Ber.: C 65.69 %, H 5.15 %) mit 9 Doppelbindungsäquivalenten ableiten. Der Molekülpeak im Massenspektrum ist gleichzeitig der Basispeak, es ist also keine Stelle im Molekül vorhanden, die die Entstehung von energetisch begünstigten Bruchstücken ermöglicht. Die zweimalige Abspaltung von 28 ME entspricht einer Eliminierung von zwei CO-Molekülen, wie sie auch bei Cumarinen beobachtet wird (48).

Der Peak bei der MZ 257 weist auf die Abspaltung einer OH-Gruppe aus dem Gesamtmolekül hin. Der Peak m/e = 231 entsteht aus

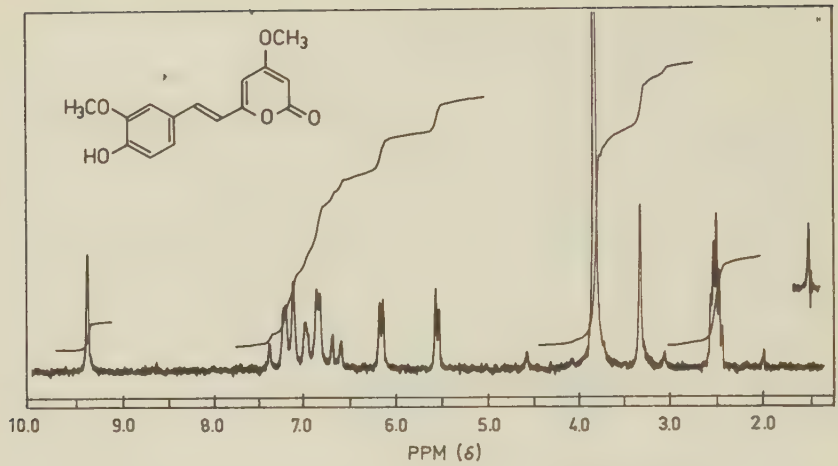



Abb. 26 : 60-MHz-NMR-Spektrum der Verbindung S VII (in DMSO $d_6$)

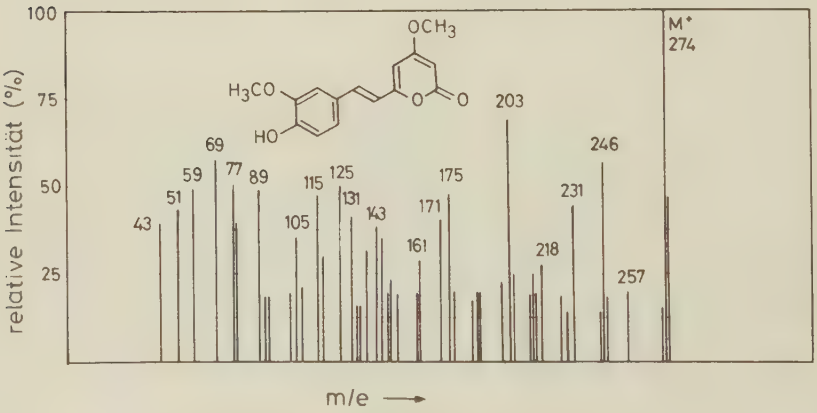



Abb. 27 : Massenspektrum der Verbindung S VII

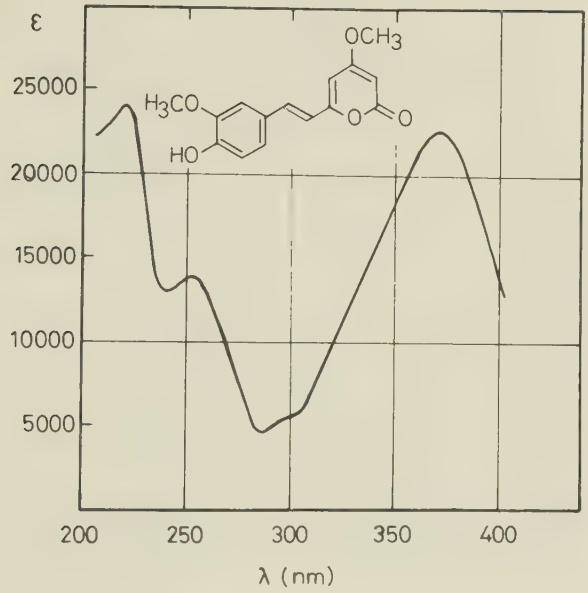



Abb. 28 : UV-Spektrum der Verbindung S VII

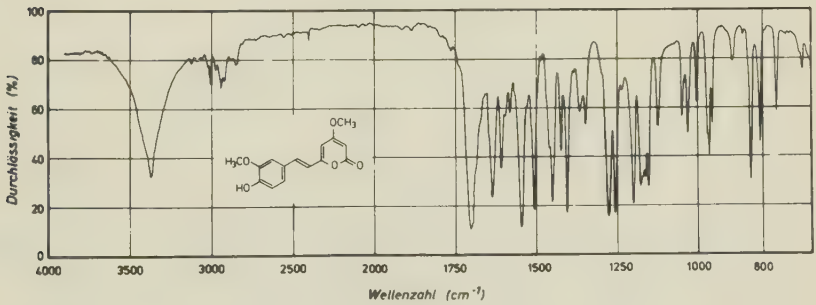
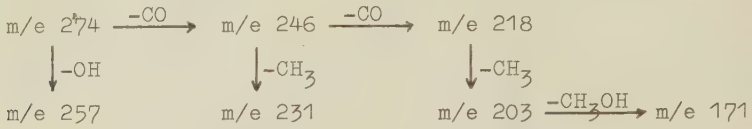



Abb. 29 : IR-Spektrum der Verbindung S VII (KBr-Preßling)

m/e = 246 durch Abspaltung von $CH_3$; ebenso geht der Peak m/e = 203 durch eine $CH_3$-Abspaltung aus m/e = 218 hervor:




Dieses Schema wird gesichert durch das Auftreten folgender metastabiler Peaks:

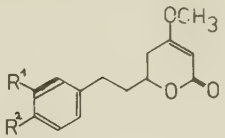
m* 241 ( m/e 274 ⟶ m/e 257 )
m* 221 ( m/e 274 ⟶ m/e 246 )
m* 217 ( m/e 246 ⟶ m/e 231 )
m* 193 ( m/e 246 ⟶ m/e 218 )
m* 151 ( m/e 274 ⟶ m/e 203 )
m* 144 ( m/e 203 ⟶ m/e 171 )

Die Absorptionsmaxima und -minima des UV-Spektrums (Abb. 28) liegen bei den Wellenlängen:

$\lambda$ max. 220 nm ( $\varepsilon$ = 24100 )
$\lambda$ min. 240 nm ( $\varepsilon$ = 12950 )
$\lambda$ max. 252 nm ( $\varepsilon$ = 14000 )
$\lambda$ min. 286 nm ( $\varepsilon$ = 4950 )
$\lambda$ max. 370 nm ( $\varepsilon$ = 22700 )

Der Verlauf des Spektrums läßt auf ein Kawalakton vom Grundtyp 6-gliedriger Laktonring mit durchkonjugiertem System schließen, was auch bereits durch das MS angezeigt wurde. Zur Veranschaulichung dieser Annahme sind die UV-Maxima der vier Grundtypen der Kawalaktone im folgenden aufgeführt (40):

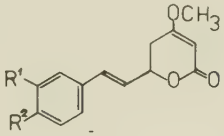
Grundtyp I : z.B. 7,8-Dihydromethysticin




$\lambda$ max 238 nm $\varepsilon$ = 15300

$\lambda$ max 287 nm $\varepsilon$ = 4100

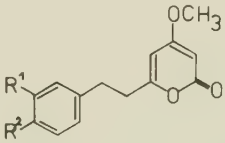
Grundtyp II : z.B. Methysticin




$\lambda$ max 227.5 nm $\varepsilon$ = 24500

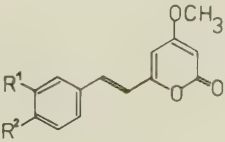
$\lambda$ max 267 nm $\varepsilon$ = 14250

Grundtyp III: z.B. 5,6-Dehydro-7,8-dihydromethysticin




$\lambda$ max 285 nm $\varepsilon$ = 11200

Grundtyp IV : z.B. 5,6-Dehydromethysticin




$\lambda$ max 222 nm $\varepsilon$ = 25600

$\lambda$ max 250 nm $\varepsilon$ = 13900

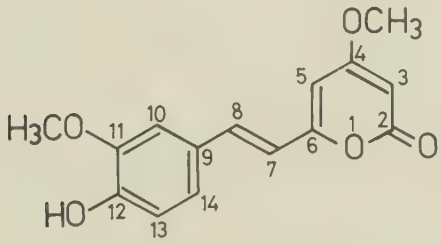
$\lambda$ max 361 nm $\varepsilon$ = 25300

Aus dem IR-Spektrum (Abb. 29) konnten einige weitere Hinweise auf die Struktur der Verbindung entnommen werden: die breite, starke Bande bei 3370 $cm^{-1}$ zeigt Vorliegen einer freien Hydroxylgruppe an, was durch das NMR erhärtet wird (Signal bei $\tau$ = 0.6, mit $D_2O$ austauschbar). Die schwache Bande bei 2850 $cm^{-1}$ weist auf eine oder mehrere $OCH_3$-Gruppen hin; nach dem NMR-Spektrum (Integration) ergeben sich zwei $OCH_3$-Gruppen. Die mittelstarke Bande bei 955 $cm^{-1}$ ist für eine CH-"out of plane"-Deformationsschwingung charakteristisch. Sie bestätigt die Vermutung aus dem UV-Spektrum, daß der Laktonring einen substituierten Styrylrest trägt und daß die Protonen an $\Delta^7$ zueinander trans stehen. Die starke Bande bei 1705 $cm^{-1}$ spricht für das Vorliegen eines 6-gliedrigen Laktonringes (vgl.: Yangonin: 1720 $cm^{-1}$), während die entsprechende Bande beim 5-gliedrigen Laktonring zwischen 1780 $cm^{-1}$ und 1730 $cm^{-1}$ erscheint. Die drei Banden bei 1610 $cm^{-1}$, 1580 $cm^{-1}$ und 1510 $cm^{-1}$ werden vom aromatischen Ringsystem hervorgerufen, die Banden bei 1635 $cm^{-1}$ und bei 1550 $cm^{-1}$ sind den Doppelbindungen $\Delta^3$ und $\Delta^5$ zuzuordnen und bestätigen wiederum, daß ein Kawalakton vom Typ des Yangonins vorliegt, da Laktone vom Kawaintyp in keinem Falle starke Absorption im Bereich von 1550 $cm^{-1}$ bis 1570 $cm^{-1}$ zeigen.

Beim NMR-Spektrum (Abb. 26) ist das Singulett bei $\tau$ = 6.15 auffallend, dessen Integral 6 Protonen anzeigt. Es ist zwei Methoxygruppen zuzuordnen und entspricht genau dem theoretischen Wert für $H_3C$-O-C=C- bzw. für $H_3C$-O-Arom.-Gruppierungen.

Das olefinische Proton 3-H tritt bei $\tau$ = 4.41 als Dublett auf mit einer schwachen Kopplung von $J_{3,5}$ = 1,5 Hz. Im Bereich der aromatischen Protonen ($\tau$ = 2.53 - 3.4) findet sich ein Multiplett, dessen Integral 5 Protonen entspricht. Hier werden die zwei Dubletts der Protonen 7-H und 8-H ($\tau$ = 2.68 und $\tau$ = 3.21; $J_{7,8}$ = 16 Hz) von den Signalen der aromatischen Protonen überlagert. Die Kopplungskonstante von $J_{7,8}$ = 16 Hz zeigt die Transstellung der Protonen an $\Delta^7$ an. Das verbreiterte Singulett bei $\tau$ = 0.6 (OH) kann durch $D_2O$-Austausch zum Verschwinden gebracht werden. Ein Test mit Gibb's Reagens ergibt, daß die OH-Gruppe in p-Stellung zum Styrylrest steht, also am C-12 des aromatischen Ringes.

Die spektroskopischen Daten legen die Annahme nahe, daß es sich bei S VII um die bereits früher aus einer dem Piper methysticum eng verwandten Art Neu-Guineas isolierte Substanz 11-Methoxy-12-noryangonin (49) handelt (Abb. 30).




11-Methoxy-12-noryangonin

Abb. 30 : Verbindung S VII

Der Mischschmelzpunkt mit dieser Substanz zeigt keine Depression; das IR-Überlagerungsspektrum (Abb. 31) keine Abweichung.

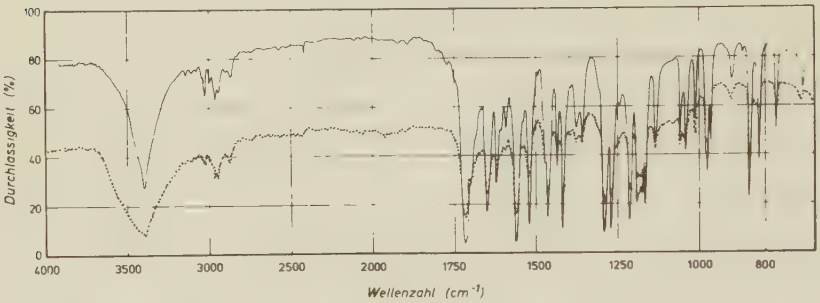



Abb. 31 : IR-Überlagerungsspektrum der Verbindung S VII mit 11-Methoxy-12-noryangonin

## 3.4. Verbindung S VI

### 3.4.1. Isolierung von S VI

Wie unter 4.2.13 beschrieben, ließ sich S VI säulenchromatographisch leicht von den übrigen Substanzen des Wurzelrohextraktes trennen. Es wurden jeweils eine Grob- und eine Feintrennung durchgeführt. Die Substanz kristallisiert aus Äthanol und schmilzt bei 152-156°C unter Zersetzung; es wurde Polymorphie beobachtet. Die Ausbeute betrug 0.15 %, berechnet auf die lufttrockene Droge.

### 3.4.2. Identifizierung der Substanz S VI durch spektroskopische Methoden

Aufgenommen wurden das IR-, NMR- und das Massenspektrum. Im ultravioletten Bereich zeigt die Substanz keine Absorption,

was auf einen nicht aromatischen Charakter der Substanz hinweist. Als Molekülpeak könnte 412 entsprechend der Summenformel $C_{29}H_{48}O$ angesehen werden. Bei näherem Betrachten des MS erkennt man jedoch in m/e = 400 und m/e = 414 zwei weitere Peaks, die als Molekülpeaks zweier begleitender homologer Verbindungen zu verstehen und denen die Summenformel $C_{29}H_{50}O$ und $C_{28}H_{48}O$ zuzuordnen sind. Alle drei Verbindungen zerfallen in völlig gleicher Weise und unterscheiden sich nur - solange die Seitenkette des Moleküls nicht abgespalten ist - durch die Differenz von +2 bzw. -12 ME von den Spaltprodukten aus m/e = 412. Wenn es sich bei der Substanz S VI um ein Gemisch sauerstoffhaltiger Steroide handelt, was nach den bisherigen Ergebnissen und einen Blick auf das NMR-Spektrum [breiter Komplex von sich überlagernden Resonanzen im Bereich von $\tau$ = 7.6 - 9.4 ppm, wie er in dieser typischen Form von Methylengruppen und den angulären Methylgruppen eines Steroidgerüstes gebildet wird (50),(51),(52)] wahrscheinlich ist, muß eine weitgehende Identifizierung mit Hilfe des Massenspektrums versucht werden (53,(54),(55), (Abb. 32).

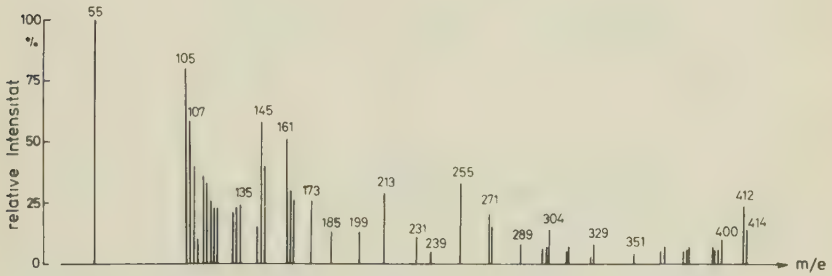



Abb. 32 : Massenspektrum der Verbindung S VI

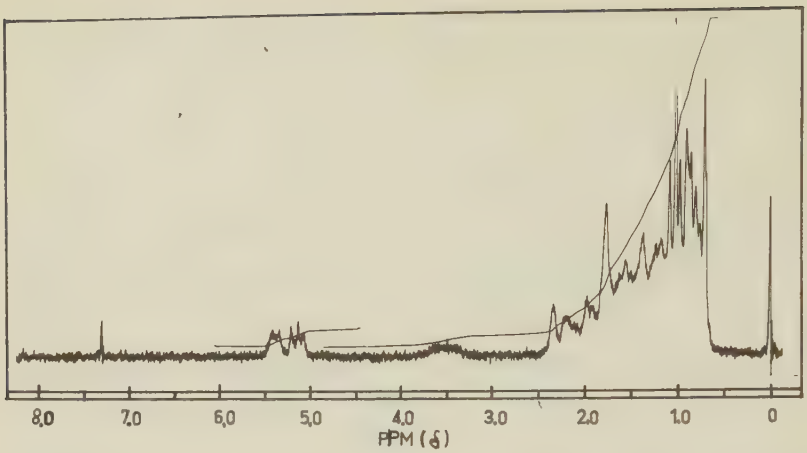
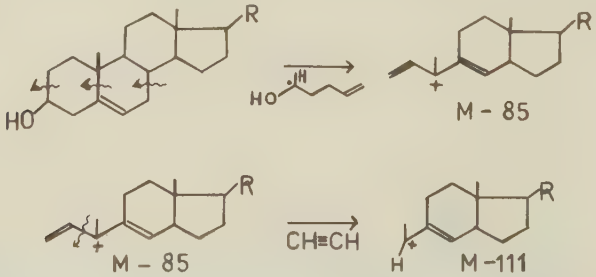


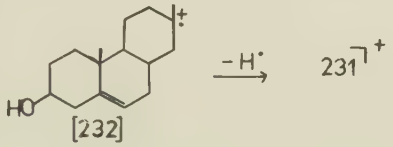

Abb. 33 : 60-MHz-NMR-Spektrum der Verbindung S VI (in $CDCl_3$)

Die Ionen M-85 und M-111 gelten als Schlüsselbruchstücke für $\Delta^5$-3-Hydroxysteroide. Sie entstehen im Zuge einer komplexen Umlagerung (56),(57). Beide Ionen treten im MS von S VI auf, und zwar in dreifacher Form mit der jeweils entsprechenden Differenz von +2 bzw. -12, so daß man davon ausgehen kann, daß alle drei Substanzen $\Delta^5$-3-Hydroxysteroide sind.




Auch das Strukturelement der MZ 231, das sich in entsprechend substituierter Form beim massenspektroskopischen Zerfall fast

aller Steroide bildet und die Zugehörigkeit einer Verbindung zu dieser Stoffgruppe beweist, tritt mit einer relativen Intensität von 11 auf.




Durch Verlust der Seitenkette entsteht aus allen drei Substanzen das Ion von m/e = 273, durch weiteren Verlust von entweder zwei Protonen das Ion m/e = 271 oder von $H_2O$ das Ion m/e = 255.

Bei dem spektroskopisch identifizierten Gemisch von S VI handelt es sich also um drei Substanzen der Gruppe $\Delta^5$-3-Hydroxysteroide. Für das Molekulargewicht 412, dem Hauptanteil in dem Gemisch, kommt nur Stigmasterin in Frage, für das Mol.Gew. 414 wären die stereoisomeren Verbindungen Clionasterin und ß-Sitosterin und für das Mol.Gew. 400 Campesterin und Dihydrobrassicasterin möglich (58). Die jeweils stereoisomeren Substanzen sind am C-24 der Seitenkette entweder $\alpha$- oder ß-substituiert. Da Stigmasterin am C-24 $\alpha$-substituiert ist, ist es aus biogenetischen Gründen wahrscheinlich, daß es sich bei den begleitenden Substanzen um ß-Sitosterin und Campesterin handelt.

Beim Stigmasterin entsteht durch Spaltung der C-20 / C-22 Bindung nach einer vorangegangenen Umlagerung, deren Mechanismus noch ungeklärt ist, das Ion der MZ 300. Die Spaltung der allylständigen Bindung unter Verbleib der positiven Ladung an dem Molekülteil, der das Steroidringsystem trägt,

ist durch den Elektronen abgebenden Effekt der benachbarten Alkylgruppen begünstigt und führt zu m/e = 301.

| Ion | m/e (rel. Intensität) | m/e (rel. Intensität) | m/e (rel. Intensität) | abgespalten |
|---|---|---|---|---|
| $M^+$ | 414 (14) | 412 (24) | 400 (10) | - |
| M - 15 | 399 (6) | 397 (6) | 385 (2) | $CH_3$ |
| M - 18 | 396 (7) | 394 (4) | 382 (7) | $H_2O$ |
| M - 33 | 381 (6) | 379 (5) | 367 (5) | $CH_3 + H_2O$ |
| M - 85 | 329 (8) | 327 (3) | 315 (7) | $C_5H_9O$ |
| M - 111 | 303 (7) | 301 (6) | 289 (7) | $C_7H_{11}O$ |
| M - Teil der Seitenkette | - | 301 (6) | - | $C_8H_{15}$ |
| | - | 300 (14) | - | |
| M - Seitenkette | 273 (15) | | | Seitenkette |
| M - (Seitenkette + 2H) | 271 (20) | | | Seitenkette + 2H |
| M - (Seitenkette + $H_2O$) | 255 (33) | | | Seitenkette + $H_2O$ |

Tab. 5 : Massenspektroskopisches Verhalten der Verbindung S VI

3.4.3. Optische Drehung der Substanz S VI

Die spez. Drehung von S VI beträgt $[\alpha]_D^{20} = -50$ ($CHCl_3$).
Zum Vergleich seien folgende Drehwerte angeführt:

| | |
|---|---|
| Campesterin | $[\alpha]_D^{23} = -33$ ($CHCl_3$) |
| Clionasterin | $[\alpha]_D^{20} = -43$ ($CHCl_3$) |
| 22-Dihydrobrassicasterin | $[\alpha]_D = -46$ ($CHCl_3$) |
| ß-Sitosterin | $[\alpha]_D^{25} = -37$ ($CHCl_3$) |
| Stigmasterin | $[\alpha]_D^{22} = -51$ ($CHCl_3$) |

Tab. 7 : Drehwerte einiger $\Delta^5$-3-Hydroxysteroide

3.4.4. Vergleich mit authentischem Material

Zum Vergleich standen handelsübliches Stigmasterin (Fp 159-161°, $[\alpha]_{546}^{20}$ -55±2° ($CHCl_3$)) und ß-Sitosterin *) zur Verfügung. Mit beiden Substanzen wurde mit S VI ein IR-Überlagerungsspektrum angefertigt (Abb. 34 und Abb. 35). Stigmasterin unterscheidet sich von ß-Sitosterin nur durch die Doppelbindung $\Delta^{22}$. Dieser Unterschied macht sich beim IR im Bereich von 960-990 $cm^{-1}$ bemerkbar. Während S VI hier mit Stigmasterin deckungsgleich ist (starke Bande, aufgespalten), zeigt ß-Sitosterin eine mittelstarke Bande bei 960 $cm^{-1}$ und eine kleine Bande bei 990 $cm^{-1}$. Geringe Abweichung im Bereich der "fingerprint"-Region bei 1230-1310 $cm^{-1}$ scheinen das MS zu bestätigen, wonach S VI sowohl Stigmasterin als auch ß-Sitosterin enthält.

---

*) Ich danke Herrn Prof. Dr. H. Rimpler für die Überlassung einer Probe authentischen ß-Sitosterins.

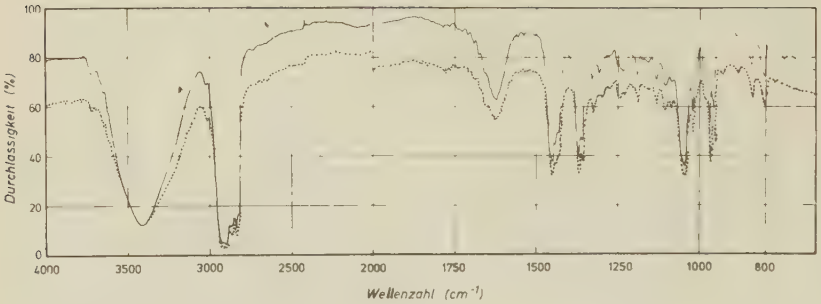



Abb. 34 : IR-Überlagerungsspektrum der Verbindung S VI mit Stigmasterin

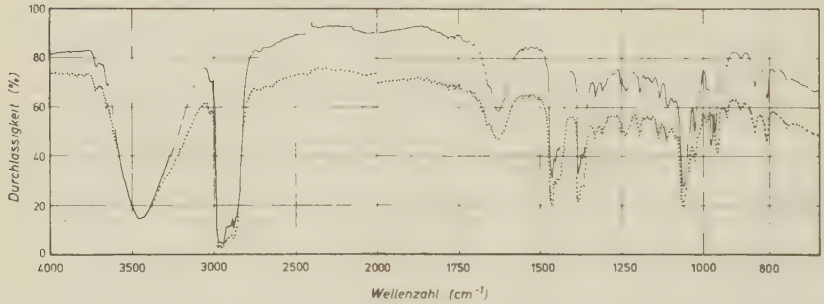



Abb. 35 : IR-Überlagerungsspektrum der Verbindung S VI mit ß-Sitosterin

## 3.5. Massenspektroskopischer Vergleich verschiedener 5-substituierter Kawalaktone

Nachdem S III als ein 5-Methoxy-5,6-dehydromethysticin identifiziert worden war, war es von Interesse festzustellen, in wieweit die Fragmentierung des Moleküls durch den zusätzlichen Substituenten am C-5 beeinflußt wird, zumal beim MS von S III der Peak m/e = 175 mit hoher rel. Intensität von 88 % auftritt, während der entsprechende Peak m/e = 131 beim 5,6-De-

hydrokawain kaum in Erscheinung tritt. Deshalb wurden zum Vergleich zwei weitere Substanzen synthetisiert (s. 4.2.15 und 4.2.17) und vermessen: 5-Hydroxy- und 5-Acetoxy-5,6-dehydrokawain. Bei diesen Substanzen zeigt dieser gleiche Peak Intensitäten von 92 % bzw. 66 %. Erstaunlicherweise trat bei allen drei Substanzen kein metastabiler Peak auf, der über die Entstehung dieses Bruchstückes Aufschluß geben könnte.

5-Acetoxy-5,6-dehydrokawain ist die einzige der geprüften Substanzen, bei der der Molekülpeak nicht gleichzeitig der Basispeak ist. Durch Abspaltung von 42 ME entsteht ein Bruchstück m/e = 244 (100 %), entsprechend dem Molekülpeak von 5-Hydroxy-5,6-dehydrokawain. Deshalb ist es nicht erstaunlich, daß die weitere Fragmentierung fast identisch zu dieser Verbindung verläuft, was besonders auch den metastabilen Peak hervorgeht.

Die zweimalige Abspaltung von CO, ausgehend vom Molekülpeak, wie sie für die Kawalaktone vom Yangonintyp charakteristisch und beim 5,6-Dehydrokawain entsprechend durch metastabile Peaks gesichert ist, läßt sich auch noch mit Vorbehalten bei der 5-Methoxy-Verbindung durch metastabile Peaks nachweisen, nicht jedoch bei den anderen beiden Substanzen. Dagegen findet sich bei diesen beiden Substanzen eine auffallende Eliminierung von 45 ME (m/e 244 ⟶ m/e 199, m* 162.3), die der Abspaltung von $CO_2$ + 1H oder von CO + OH entsprechen könnte, sowie die Abspaltung von 28 ME aus m/e 173 und m/e 131.

In Tab. 8 sind die massenspektroskopischen Daten der untersuchten Substanzen und der Vergleichssubstanz 5,6-Dehydrokawain zusammengestellt; in Abb. 36 und Abb. 37 sind die Linienspektren der vier Substanzen wiedergegeben.

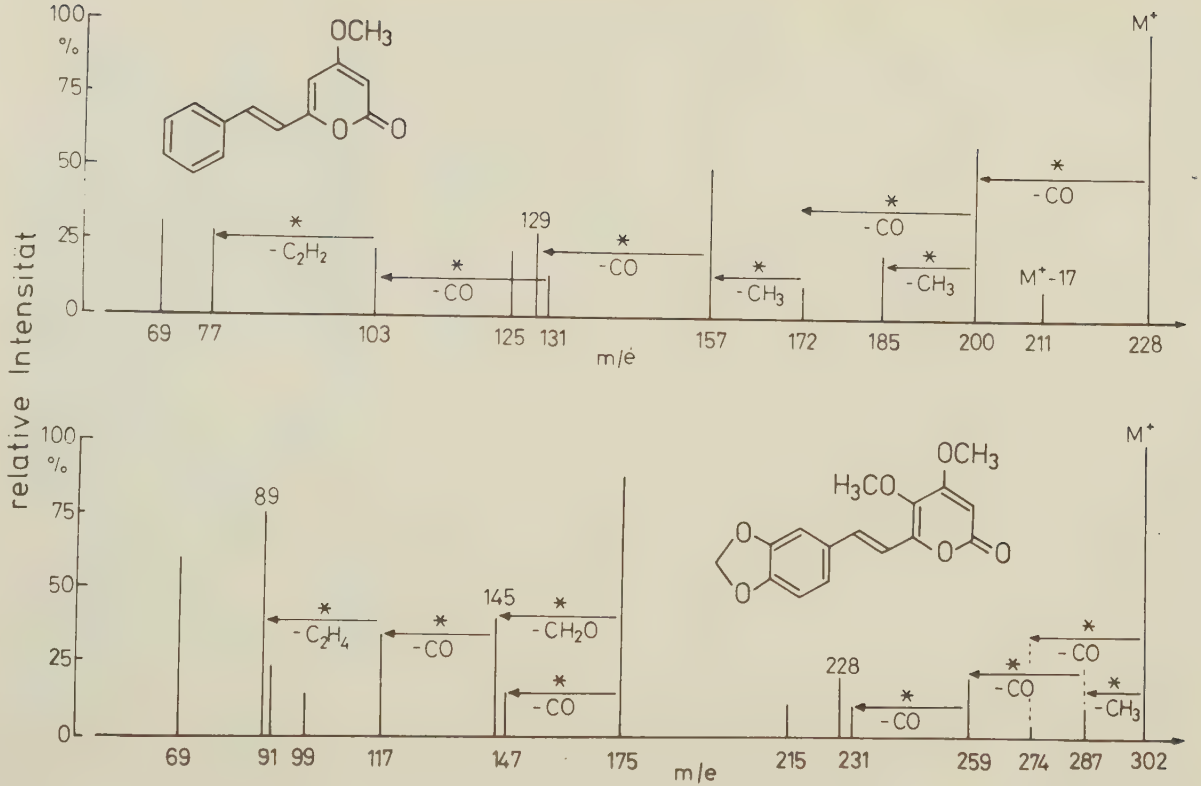



Abb. 36 : Linienspektren von 5,6-Dehydrokawain (oben) und 5-Methoxy-5,6-dehydromethysticin (unten)

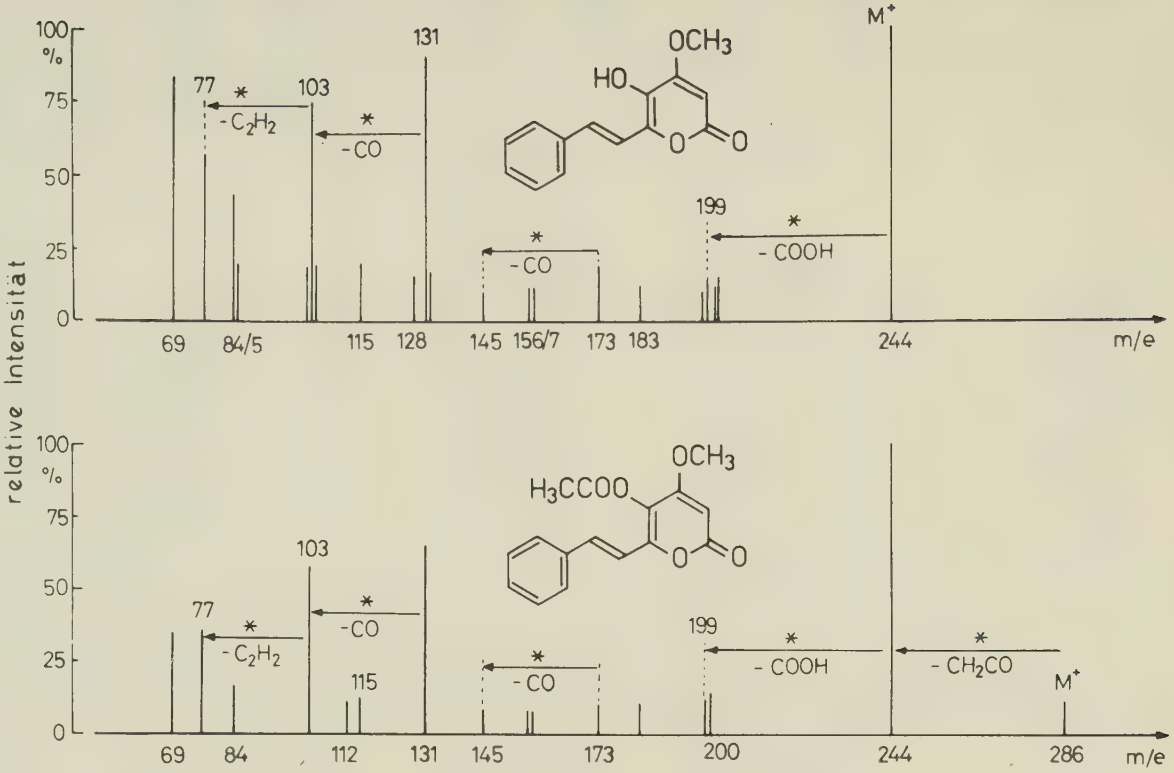



Abb. 37 : Linienspektren von 5-Hydroxy-5,6-dehydrokawain (oben) und 5-Acetoxy-5,6-dehydrokawain (unten)

[228]

| m/e | |
|---|---|
| | 228 (100) |
| | 211 (12) |
| | 200 (50) |
| | 185 (21) |
| | 172 (13) |
| | 157 (52) |
| | 131 (15) |
| | 129 (28) |
| | 128 (24) |
| | 125 (32) |
| | 103 (24) |
| | 77 (27) |
| | 69 (28) |
| m* 175.5 | (228 - 200) |
| 171.1 | (200 - 185) |
| 148 | (200 - 172) |
| 143.3 | (172 - 157) |
| 123.3 | (200 - 157) |
| 106 | (157 - 129) |
| 81 | (131 - 103) |
| 57.5 | (103 - 77) |



[244]

| m/e | |
|---|---|
| | 244 (100) |
| | 202 (16) |
| | 201 (12) |
| | 199 (16) |
| | 198 (13) |
| | 183 (14) |
| | 173 (19) |
| | 157 (12) |
| | 156 (12) |
| | 145 (10) |
| | 132 (17) |
| | 131 (92) |
| | 128 (17) |
| | 115 (19) |
| | 112 (16) |
| | 104 (21) |
| | 103 (75) |
| | 102 (19) |
| | 85 (20) |
| | 84 (46) |
| | 77 (58) |
| | 69 (83) |
| m* 162.3 | (244 - 199) |
| 121.5 | (173 - 145) |
| 81 | (131 - 103) |
| 57.5 | (103 - 77) |



[286]

| m/e | |
|---|---|
| | 286 (11) |
| | 244 (100) |
| | 200 (15) |
| | 199 (13) |
| | 183 (11) |
| | 173 (10) |
| | 157 ( 7) |
| | 156 ( 8) |
| | 145 ( 7) |
| | 131 (66) |
| | 115 (12) |
| | 112 (11) |
| | 103 (58) |
| | 84 (18) |
| | 77 (34) |
| | 69 (34) |
| m* 208 | (286 - 244) |
| 162.3 | (244 - 199) |
| 121.5 | (173 - 145) |
| 81 | (131 - 103) |
| 57.5 | (103 - 77) |



[302]

| m/e | |
|---|---|
| | 302 (100) |
| | 287 (10) |
| | 274 ( 5) |
| | 259 (20) |
| | 231 (10) |
| | 228 (20) |
| | 215 (11) |
| | 175 (88) |
| | 147 (15) |
| | 145 (40) |
| | 117 (35) |
| | 99 (14) |
| | 91 (25) |
| | 89 (76) |
| | 69 (60) |
| m* 273 | (302 - 287) |
| 249 | (302 - 274) |
| 234 | (287 - 259) |
| 206 | (259 - 231) |
| 123.5 | (175 - 147) |
| 120 | (175 - 145) |
| 94.4 | (114 - 117) |
| 67.7 | (117 - 89) |

Tab. 8 : Übersicht über das massenspektroskopische Verhalten dreier 5-substituierter Kawalaktone und Vergleich mit dem MS des 5,6-Dehydrokawain

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

# E X P E R I M E N T E L L E R  T E I L

# 4. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

## E X P E R I M E N T E L L E R  T E I L

## 4.1. A l l g e m e i n e  A n g a b e n

### 4.1.1. Chromatographie

Zur Dünnschichtchromatographie wurden Platten von 20 x 20 cm Größe verwendet. Für die laufenden Untersuchungen gelten Standardbedingungen nach STAHL (59), die Schichtdicke des Sorptionsmittels (Kieselgel F "Woelm" DC) betrug etwa 0.25 mm. Die in der vorliegenden Arbeit angegebenen Rf-Werte sind - wenn nichts anderes angegeben - an DC-Fertigplatten Kieselgel F 254 "Merck", die eine bessere Reproduzierbarkeit der Werte gewährleisten, bestimmt worden. Die Mischungsverhältnisse bei Fließmitteln beziehen sich auf Volumina (v/v). Die Chromatogramme wurden vor einer Universal UV-Lampe Typ TL 900 der Firma Camag ausgewertet; Emissionsmaxima bei 366 nm bzw. 254 nm.
Detektion: Als Sprühreagens wurde eine Lösung von 5 T. Anisaldehyd und 5 T. Orthophosphorsäure in 90 T. 95-%igem Äthanol benutzt. Optimale Farbausbildung ergab sich nach etwa 10-min. Erhitzen im Trockenschrank bei 120°C.
Zur Säulenchromatographie wurde Kieselgel "Woelm" mit einer Korngröße von 0.05 - 0.2 mm verwendet.

### 4.1.2. Spektroskopie

UV-Spektroskopie: Die Absorptionsspektren wurden mit einem Zeiss-Spektralphotometer PMQ 2 aufgenommen. Die Konzentration betrug 4-5 mg / l bei einer Quarzküvette mit 2 cm Schichtdicke. Als Lösungsmittel dienten Methanol oder Äthanol Uvasol ("Merck").

IR-Spektroskopie

Die IR-Spektren wurden mit einem Leitz-Unicam-Spektralphotometer SP 200 G an KBr-Preßlingen aufgenommen. Konzentration: 1.6 mg / 200 mg und 0.7 mg / 170 mg.

NMR-Spektroskopie

Die Kernresonanzspektren wurden mit einem Spektrometer Varian-S-60 aufgenommen. Lösungsmittel: $CDCl_3$ oder DMSO, Tetramethylsilan als innerer Standard. Alle Angaben von ppm sind $\tau$-Werte.

Massenspektroskopie

Die Massenspektren wurden mit einem Massenspektrographen CH 7 Varian MAT Bremen, bei 70 eV und variablen Temperaturen aufgenommen, die jeweils angegeben werden. Das hochauflösende Massenspektrum wurde von dem Laboratorium A. Pelter Ph. D., University College of Swansea, aufgenommen.

4.1.3. Schmelzpunktbestimmung

Die Schmelzpunkte wurden mit einem KOFLER-Heiztischmikroskop bestimmt.

4.1.4. Mikroanalysen

Die Mikroanalysen wurden im Mikroanalytischen Labor J. BEETZ, 864 Kronach, im Pharmazeutischen Institut der FU-Berlin, sowie im analytischen Laboratorium der Fa. Schering AG. Berlin, durchgeführt.

4.1.5. Optische Drehung

Die Bestimmung der optischen Drehung wurde mit dem lichtelektrischen Präzisionspolarimeter 0,005 (Zeiss) durchgeführt.

## 4.2. Spezielle Angaben

### 4.2.1. Herkunft der Droge

Das zu untersuchende Material wurde in Arroyo Basuras, Sontecomapan (Provinz Veracruz) von Herrn R. Hernandez 1964 im August gesammelt und von Herrn Prof. Dr. A. G. Pompa botanisch bestimmt *). Belegexemplare der Pflanze werden im Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der FU-Berlin aufbewahrt.

Das zur Verfügung stehende Pflanzenmaterial bestand aus Teilen der Sproßachse und aus Teilen der Wurzel; beide erreichten einen Durchmesser von 5 cm und mehr. Das Mark der Achsenteile war dunkler gefärbt und zum Teil gekammert (Abb. 2).

### 4.2.2. Bearbeitung der Droge

Nach sorgfältigem Trennen des Drogengemisches in Wurzel- und Sproßanteile und nach dem Zerkleinern wurde die grob gemahlene Droge in Anteilen von etwa 500 g mit je 1 l Methylenchlorid unter Rückfluß dreimal 1 h ausgekocht. Abpressen, Filtrieren und Einengen im Vakuum ergaben den Rohextrakt, der in Methanol im Verhältnis 1:3 gelöst und zum Auskristallisieren der Substanzen S I und S II (S I = MDO-Piperolid, S II = Piperolid) 10 Tage in den Kühlschrank gestellt wurde. Der Preßrückstand wurde anschließend mit Äthanol in gleicher Weise extrahiert.

---

*) Ich danke Herrn Prof. Dr. Arturo Goméz-Pompa, Instituto de Biologia (UNAM), Mexiko und Herrn Dr. Rainer Schwarz, c/o Proquina, Orizaba (Mexiko) für die Hilfe bei der Beschaffung des authentischen Pflanzenmaterials.

1 kg Wurzeldroge liefern 26 g Methylenchloridrohextrakt
und 12 g Äthanolrohextrakt.

1 kg Sproßdroge liefern 12 g Methylenchloridrohextrakt
und 4 g Äthanolrohextrakt.

4.2.3. Aufarbeitung des Extraktes

Das Kristallgemisch (S I und S II), etwa 25 % des Methylenchloridrohextraktes aus der Wurzel, wurde durch Filtrieren abgetrennt, das Filtrat vom Lösungsmittel befreit und mit Celite im Verhältnis 1:1 verrieben. Beim Rohextrakt des Sprosses wurde auf das Abtrennen von S I und S II verzichtet, da diese Substanzen hier in geringerer Konzentration vorliegen.

24 g dieser Verreibung wurden auf eine Säule (Ø 4.5 cm gebracht, die mit 400 g Kieselgel "Woelm" der Korngröße 0.05 - 0.2 mm (aufgeschlemmt in Benzol / Aceton 9:1) beschickt war. Eluiert wurde mit Benzol / Aceton 9:1 bei einer Tropfgeschwindigkeit von 100 Tr./min.; Fraktionen wurden in Reagenzgläsern in Abständen von 7 bzw. 10 min. gesammelt, entsprechend 12.5 bzw. 17.5 ml Eluat. Nach DC-Prüfung einheitliche Fraktionen wurden vereinigt und zur Feintrennung auf weitere Säulen gegeben.

4.2.4. Auftrennung des Eluats aus dem Wurzelextrakt

| Fraktion (F) | Eluat (ml) | Eindampfrückstand (g) | DC; hRf*) |
|---|---|---|---|
| 1 | 150 | 1.6 | hRf 90, hRf 76 |
| 2 | 125 | 0.6 | hRf 76, S IX, hRf 63 |
| 3 | 240 | 4.9 | S IV, S II, S I, S VI |
| 4 | 38 | 0.1 | S I, S VI, S V |
| 5 | 125 | 1.1 | S V, S III |
| 6 | 175 | 0.5 | S V, S III |
| 7 | 300 | 0.4 | hRf 38, hRf 36 |
| 8 | 250 | 0.6 | hRf 36 |
| 9 | 312 | 0.1 | S VII |
| 10 | 195 | 0.3 | hRf 21 |

*) DC-Prüfung: Benzol / Aceton 8:2 als Fließmittel iterierend (2 x). Auswertung: Betrachten im Tageslicht und vor der Analysenquarzlampe, sowie Nachweis durch Besprühen mit Anisaldehydreagenz (s. 4.1.1.), hRf = Rf-Wert x 100.

Zusammenstellung der verwendeten Abkürzungen:

S I = MDO-Piperolid

S II = Piperolid

S III = 5-Methoxy-5,6-dehydromethysticin

S IV = Epoxypiperolid

S V = 5,6-Dehydro-7,8-dihydromethysticin

S VI = Stigmasterin, ß-Sitosterin, Campesterin

S VII = 11-Methoxy-12-noryangonin

S IX = 5-Acetoxy-6-methoxykawain

4.2.5. Auftrennung des Eluats aus dem Sproßextrakt

| Fraktion (F) | Eluat (ml) | Eindampfrückstand (g) | DC; hRf *) |
|---|---|---|---|
| 1 | 140 | 0.7 | hRf 78, hRf 72, hRf 70 |
| 2 | 70 | 0.9 | hRf 70, hRf 63 |
| 3 | 140 | 1.4 | S II, S IV |
| 4 | 280 | 3.4 | S I, S II, S IV, S VI |
| 5 | 210 | 0.9 | hRf 38 |
| 6 | 350 | 0.6 | hRf 28 |
| 7 | 210 | 0.3 | hRf 28, hRf 24 |
| 8 | 1500 | 2.1 | hRf 28, hRf 24, hRf 18 |

*) DC-Prüfung wie bei 4.2.4.

4.2.6. Isolierung der Substanzen S III und S VII

a) Die aus mehreren Ansätzen gesammelten Fraktionen F 5 und F 6 des Wurzelextraktes (s. 4.2.4.) wurden vereinigt, vom Lösungsmittel befreit und mit Celite 1:1 verrieben ( = F 5,6). Zur Feintrennung wurden jeweils 6 g F 5,6 auf eine Säule (Ø 2.3 cm) gebracht, die mit 100 g Kieselgel, aufgeschlemmt in Benzol / Aceton 9:1, beschickt war und mit Benzol / Aceton 9:1 eluiert wurde. Nach DC-Prüfung wurden die die Substanz S III enthaltenden Fraktionen vereinigt, im Vakuum eingeengt und mit 3-5 ml heißem Äthanol aufgenommen. Die im Kühlschrank bei -2°C ausfallende Substanz wurde mehrmals aus heißem Aceton umkristallisiert.

b) Eine zweite Methode zur Isolierung von S III wurde mit Hilfe der Verteilungschromatographie erprobt.

Ein Gemisch aus 500 T. Cyclohexan
80 T. Chloroform
160 T. Methanol
10 T. Wasser

bildet im Scheidetrichter zwei Phasen. 400 g Celite 545 wurde 3 h mit 5 Unter- und 2 Oberphasen geschüttelt, in eine Säule (Ø 5.5 cm) gefüllt und festgestampft, bis die Schichthöhe etwa 40 cm betrug. 12 g Wurzelextrakt (ohne S I und S II) wurden in der Oberphase gelöst und an 12 g Celite gebunden. Nach Vertreiben des Lösungsmittels verblieb ein streufähiges Pulver, welches auf die Säule gebracht wurde. Als mobile Phase wurde die Oberphase verwendet; die Tropfgeschwindigkeit betrug 10 Tr./min. Die Fraktionen wurden zu 7 ml gesammelt und DC-geprüft. Die Fraktionen, die S III enthielten, wurden vereinigt. Die Feintrennung erfolgte wie unter a) beschrieben.
Ausbeute: Aus insgesamt 180 g Wurzelrohextrakt, entsprechend 7 kg lufttrockener Droge, konnten 69 mg S III isoliert werden, das sind 0.001 % Ausbeute. Schmp.: 255-261°C (Zersetzung; Aufheizgeschwindigkeit 4°C / min.: Präparat bei 245°C aufgelegt). Die Substanz ist gelb gefärbt. Die unter dem Mikroskop erkennbaren Nadeln geben ihr makroskopisch ein watteartiges Aussehen.

c) Die Feintrennung der Sammelfraktionen F 9 des Wurzelextraktes mit S VII erfolgte im wesentlichen wie bei S III über Kieselgel. Eluiert wurde wegen der größeren Hydrophilität der Substanz mit Benzol / Aceton 8:2. Umkristallisiert wurde aus Chloroform / Äthanol.

Ausbeute: Die Ausbeute betrug 75 mg, so daß man ausgehend von 7 kg Trockenmaterial ebenfalls von 0.001 % sprechen kann. Der Schmp. liegt bei 218-219°C. Die Substanz kristallisiert in Form gelber Balken.

4.2.7. Eigenschaften von S III

Die leicht sublimierbare Substanz ist sehr schwer löslich in hydrophilen und lipophilen Lösungsmitteln, löslich in heißem DMSO und in heißem Pyridin. Bei Tüpfelung mit $H_2SO_4$ (konz.) färbt sich die Substanz gelb-braun.

Summenformel: $C_{16}H_{14}O_6$

Ber.: 302.0790

Gef.: 302.0793

C,H-Analyse: Ber.: C 63.57 % , H 4.67 %

Gef.: C 62.75 % , H 4.99 %

Schmp.: 255-261°C, Zersetzung, Aufheizgeschwindigkeit 4°C / min., Präparat bei 245°C aufgelegt.

Rf-Wert x 100: 40 (Benzol / Aceton 8:2, 2 x entwickelt)

UV: (Methanol Uvasol "Merck")

$\lambda$ max 225 nm $\varepsilon$ = 20550

$\lambda$ max 255 nm $\varepsilon$ = 13250

$\lambda$ max 370 nm $\varepsilon$ = 21200

IR: (KBr)

675 (w), 685 (w), 710 (w), 725 (w), 755 (m), 790 (m), 810 (w), 910 (sh), 920 (m), 950 (s), 965 (s), 995 (m), 1025 (s), 1055 (s), 1105 (w), 1145 (m), 1185 (w), 1190 (m), 1250 (s), 1275 (m), 1305 (m), 1360 (m), 1410 (s), 1445 (s), 1455 (s), 1495 (s), 1540 (s), 1605 (w), 1630 (s), 1715 (s), 1820 (w), 2825 (w), 2910 (w), 2950 (m), 2980 (w), 3080 (m) [$cm^{-1}$].

NMR: (DMSO, 60 MHz)

$\tau$ = 6.35 (s, 5-$OCH_3$), 6.15 (s, 4-$OCH_3$), 4.35 (s, 3-H), 4.06 (s, $-OCH_2O-$), 3.15 (d, 7-H, $J_{7,8}$ = 16 Hz), 3.1-2.8 (m, $H_{aromat.}$), 2.6 (d, 8-H, $J_{7,8}$ = 16 Hz).

MS: (rel. Intensität > 10 %) bei 165°C aufgenommen

m/e = 303 (15), 302 (100, $M^+$), 287 (10), 259 (20), 231 (10), 228 (20), 215 (11), 175 (88), 147 (15), 145 (40), 117 (35), 99 (14), 91 (25), 89 (76), 69 (60).

4.2.8. Acetylierung von S III

Die Acetylierung mit Pyridin / Essigsäureanhydrid in der üblichen Weise verlief negativ: das Ausgangsprodukt wurde zurückgewonnen.

4.2.9. Hydrierung von S III

52 mg S III und 45 mg vorhydrierter PdC-Katalysator (10 proz.) werden mit 10 ml Essigester in einer Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Nach 3 h ist die Wasserstoffaufnahme (9.2 ml $H_2$, 20°C, 751 Torr) beendet. 5 ml $H_2$ werden innerhalb von 40 min., 4.2 ml $H_2$ in weiteren 2 1/2 h aufgenommen. Nach Abfiltrieren des Katalysators und Vertreiben des Lösungsmittels verbleiben 50 mg eines gelblichen Öles, das in 5 ml Äther aufgenommen und 24 h bei -10°C aufbewahrt wird. Es bilden sich 16.1 mg farblose Kristalle vom Schmp. 128°C. Von den Kristallen wurden Spektren angefertigt, die Mutterlauge wurde DC-geprüft.

4.2.10. Eigenschaften von S III-hydriert

Schmp.: 128 °C

Summenformel: $C_{16}H_{18}O_6$

Mol. Gew.: 306.3

Rf-Wert x 100: 49 (Benzol / Aceton 8:2, 2 x entwickelt)

IR: (KBr)

630 (m), 700 (w), 715 (w), 775 (m), 805 (s), 820 (s), 850 (w), 865 (m), 920 (s), 990 (s), 1020 (s), 1055 (s), 1085 (w), 1110 (m), 1180 (m), 1215 (s), 1235 (s), 1290 (m), 1355 (m), 1385 (w), 1405 (m), 1435 (sh), 1445 (s), 1465 (sh), 1495 (s), 1625 (s), 1710 (s), 1725 (s), 2790 (w), 2850 (w), 2940 (m), 3070 (m) $[cm^{-1}]$.

NMR: ($CDCl_3$, 60 MHz)

$\tau$ = 8.3-7.6 (m, 7-H), 7.45-7.1 (m, 8-H), 6.55 (s, 5-$OCH_3$), 6.61-6.4 (m, 5-H, $J_{5,6}$ = 3 Hz), 6.2 (s, 4-$OCH_3$), 6.0-5.65 (m, 6-H, $J_{5,6}$ = 3 Hz), 4.76 (d, 3-H, $J_{3,5} \approx 1$ Hz), 4.05 (s, $-OCH_2O-$), 3.28 (s, $H_{aromat.}$).

MS: (rel. Intensität $>$ 10 %) bei 100°C aufgenommen

m/e = 306 (20, $M^+$), 171 (12), 166 (12), 165 (52), 161 (18), 149 (24), 148 (72), 147 (20), 139 (22), 136 (36), 135 (100), 131 (18), 128 (24), 127 (10), 122 (12), 119 (14), 115 (12), 113 (64), 105 (14), 104 (12), 103 (10), 91 (28), 89 (24), 85 (34), 84 (12), 79 (14), 78 (12), 77 (42), 71 (40), 69 (16), 65 (18), 63 (12), 59 (14), 57 (10), 55 (12), 51 (24).

DC-Chromatographie

Es wurden Kieselgelfertigplatten 60 F 254 "Merck" in Benzol / Aceton 8:2 zweimal entwickelt.

| Substanz | Rf-Wert x 100 | kw UV | lw UV |
|---|---|---|---|
| S III-hydriert (Kristalle) | 49 | dunkel | - |
| S III-hydriert (Mutterlauge) | 49 / 52 | dunkel | - |

4.2.11. Synthese von S III und S III-hydriert

4.2.11.1. Synthese von 5,6-cis- und 5,6-trans-5-Hydroxymethysticin (aus nat. Methysticin)

8 g Methysticin (isoliert aus Piper methysticum) werden mit 2 g Selendioxid in 50 ml Dimethylformamid 10 min unter magnetischem Rühren am Rückfluß gekocht. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird filtriert, das Filtrat in 500 ml Wasser gegeben und mit Essigester extrahiert. Der Extrakt wird mit ca 20 g Natriumsulfat und 3 g Kohle über Nacht stehen gelassen, filtriert und am Rotationsverdampfer zur Trockne eingeengt. Der Rückstand (8 g) wird in 10 ml Essigester gelöst, auf eine Kieselgelsäule (400 g Kieselgel, Ø 5 cm), die mit 40 g neutralem Aluminiumoxid überschichtet ist, gegeben und mit Cyclohexan / Essigester (1:1) fraktioniert eluiert. Die vereinigten Fraktionen, die die Ausgangssubstanz Methysticin (Schmp. 132-134°C, hRf 16, DC an Kieselgel, Cyclohexan / Essigester 1:1) enthalten, ergeben beim Einengen 3.4 g.

Die Fraktionen, die 5,6-cis- und 5,6-trans-5-Hydroxymethysticin (hRf 13, DC an Kieselgel, Cyclohexan / Essigester 1:1) enthalten, ergeben beim Einengen 1.1 g braunes Öl, das nicht kristallisiert und deshalb an einer Säule mit bas. Aluminiumoxid (Ø 2 cm, 200 g Aluminiumoxid bas. "Merck", Essigester als Fließmittel) weiter fraktioniert wird. Es werden Fraktionen zu 20 ml gesammelt und nach DC-Prüfung (bas. Aluminiumoxid-Fertigplatten, Essigester, Nachweis durch Fluoreszenzlöschung) zu drei Fraktionen vereinigt. Die vom Lösungsmittel befreiten Fraktionen ergeben: F I = 420 mg gelblich kristallinen Eindampfrückstand, hRf 11; F II = 80 mg DC-bestehend aus hRf 11 und hRf 4; F III = 530 mg gelblich kristallinen Eindampfrückstand, hRf 4.

a) 5,6-cis-5-Hydroxymethysticin: Fraktion F I wird in wenig Methanol heiß gelöst, mit 10 ml Äther versetzt, heiß filtriert und 24 h bei Raumtemperatur stehen gelassen. 290 mg 5,6-cis-5-Hydroxymethysticin kristallisieren in farblosen Nadeln.

Eigenschaften von 5,6-cis-5-Hydroxymethysticin

Schmp.: 175-176°C

Summenformel: $C_{15}H_{14}O_6$

Mol. Gew.: 290.3

C,H-Analyse: Ber.: C 62.06 % , H 4.86 %

Gef.: C 62.15 % , H 5.17 %

IR: (KBr)

800 (m), 820 (m), 830 (m), 870 (m), 940 (s), 955 (w), 970 (s), 1000 (m), 1050 (s), 1110 (s), 1145 (w), 1185 (w), 1200 (m), 1225 (s), 1240 (s), 1260 (s), 1290 (m), 1330 (m), 1370 (s), 1450 (s), 1495 (s), 1627-1650 (s, aufgespalten), 1665-1685 (s, aufgespalten), 3300 (s, breit, OH) $[cm^{-1}]$.

NMR: ($CDCl_3$, 100 MHz)

$\tau$ = 6.9 (s, OH), 6.2 (s, $OCH_3$), 5.85 (d, 5-H, $J_{5,6}$ = 3 Hz), 4.8 (s, 3-H), 4.08 (s, $-OCH_2O-$), 4.06 (dd, 6-H, $J_{5,6}$ = 3 Hz, $J_{6,7}$ = 7 Hz), 3.65 (dd, 7-H, $J_{6,7}$ = 7 Hz, $J_{7,8}$ = 16 Hz), 3.2 (m, $H_{aromat.}$), 3.18 (d, 8-H, $J_{7,8}$ = 16 Hz).

MS: (rel. Intensität $>$ 10 %) bei 150°C aufgenommen

m/e = 290 (41, $M^+$), 178 (11), 177 (100), 148 (19), 147 (33), 135 (56), 131 (14), 114 (58), 103 (11), 91 (11), 89 (12), 77 (11), 69 (10).

b) 5,6-trans-5-Hydroxymethysticin: Fraktion F III wird wie F I behandelt. Es kristallisieren aus Äther 350 mg farblose Nadeln.

Eigenschaften von 5,6-trans-5-Hydroxymethysticin

Schmp.: 137-138°C

Summenformel: $C_{15}H_{14}O_6$

Mol. Gew.: 290.3

C,H-Analyse: Ber.: C 62.06 % , H 4.86 %

Gef.: C 61.82 % , H 4.92 %

IR: (KBr)

805-835 (m, breit), 820 (m), 935 (m), 970 (m), 1000 (m), 1045 (s), 1085-1110 (m, breit), 1235 (s), 1255 (s), 1300 (w), 1310 (m), 1445 (s), 1490 (s), 1500 (s), 1630 (s), 1675-1700 (s, aufgespalten), 3300 (s, breit, OH) $[cm^{-1}]$.

NMR: ($CDCl_3$, 100 MHz)

$\tau$ = 6.9 (s, OH), 6.2 (s, $OCH_3$), 5.72 (d, 5-H, $J_{5,6}$ = 7 Hz), 5.13 (m, 6-H, $J_{5,6}$ = 7 Hz, $J_{6,7}$ = 7 Hz), 4.84 (s, 3-H), 4.08 (s, $-OCH_2O-$), 3.98 (dd, 7-H, $J_{6,7}$ = 7 Hz, $J_{7,8}$ = 16 Hz), 3.32 (d, 8-H, $J_{7,8}$ = 16 Hz), 3.19 (m, $H_{aromat.}$).

MS: (rel. Intensität $>$ 10 %) bei 150°C aufgenommen

m/e = 290 (22, $M^+$), 272 (39), 229 (10), 201 (10), 178 (11), 177 (100), 176 (15), 175 (12), 161 (12), 159 (15), 149 (11), 148 (18), 147 (48), 135 (42), 131 (39), 115 (16), 114 (73), 103 (24), 102 (21), 91 (13), 89 (24), 77 (21), 69 (13).

4.2.11.2. Synthese von 5,6-cis-5-Methoxymethysticin

100 mg 5,6-cis-5-Hydroxymethysticin werden in 10 ml Äthylmethylketon mit 0.5 g Silberoxid und 2 ml Methyljodid unter Rühren 1 h am Rückfluß gekocht. Es wird heiß filtriert und das Filtrat zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wird aus Methanol / Äther umkristallisiert.

Ausbeute: 80 mg farblose Nadeln.

Eigenschaften von 5,6-cis-5-Methoxymethysticin

Schmp.: 165-166°C

Summenformel: $C_{16}H_{16}O_6$

Mol. Gew.: 304.3

C,H-Analyse: Ber.: C 63.15 % , H 5.30 %

Gef.: C 63.27 % , H 5.41 %

IR: (KBr)

810 (s), 845 (w), 855 (w), 865 (w), 890 (w), 935 (s), 970 (s), 1000 (w), 1020 (s), 1045 (s), 1065 (m), 1095 (s), 1140 (m), 1180 (w), 1200 (m), 1230 (s), 1260 (s), 1280 (m), 1295 (m), 1320 (w), 1495 (s), 1505 (s), 1630 (s), 1705 (s) $[cm^{-1}]$.

NMR: ($CDCl_3$, 100 MHz)

$\tau$ = 6.52 (s, 5-$OCH_3$), 6.29 (d, 5-H, $J_{5,6}$ = 3 Hz), 6.2 (s, 4-$OCH_3$), 5.12 (dd, 6-H, $J_{5,6}$ = 3 Hz, $J_{6,7}$ = 7 Hz), 4.76 (s, 3-H), 4.06 (s, $-OCH_2O-$), 3.81 (dd, 7-H, $J_{6,7}$ = 7 Hz, $J_{7,8}$ = 16 Hz), 3.32 (d, 8-H, $J_{7,8}$ = 16 Hz), 3.13 (m, $H_{aromat.}$).

MS: (rel. Intensität $>$ 10 %) bei 180°C aufgenommen

m/e = 304 (11, $M^+$), 260 (14), 147 (14), 143 (32), 135 (23), 131 (14), 129 (20), 128 (100), 115 (23), 113 (77), 104 (13), 103 (34), 102 (17), 91 (14), 89 (12), 85 (20), 84 (96), 78 (13), 77 (29), 69 (13).

4.2.11.3. Synthese von 5,6-trans-5-Methoxymethysticin

100 mg 5,6-trans-5-Hydroxymethysticin werden analog dem cis-Isomeren methyliert und aufgearbeitet. Es werden 70 mg 5,6-trans-5-Methoxymethysticin in farblosen Nadeln erhalten.

Eigenschaften von 5,6-trans-5-Methoxymethysticin

Schmp.: 116-117°C

Summenformel: $C_{16}H_{16}O_6$

Mol. Gew.: 304.3

C,H-Analyse: Ber.: C 63.15 % , H 5.30 %

Gef.: C 63.54 % , H 5.48 %

IR: (KBr)

780 (m), 790 (m), 810 (s), 880 (m), 895 (w), 940 (m), 950 (m), 960 (w), 990 (s), 1005 (m), 1050 (s), 1080 (s), 1110 (s), 1120 (s), 1130 (s), 1180 (w), 1200 (m), 1220 (s), 1230 (s), 1260 (s), 1360 (s), 1390 (s), 1445 (s), 1470 (w), 1495 (s), 1500 (s), 1600 (w), 1635 (s), 1645 (s), 1675 (s), 1705 (sh) $[cm^{-1}]$.

NMR: ($CDCl_3$, 100 MHz)

$\tau$ = 6.5 (s, 5-$OCH_3$), 6.22 (s, 4-$OCH_3$), 6.2 (m, 5-H, $J_{5,6}$ = 7 Hz), 4.91 (m, 6-H, $J_{5,6}$ = 7 Hz, $J_{6,7}$ = 7 Hz), 4.8 (s, 3-H), 4.08 (dd, 7-H, $J_{6,7}$ = 7 Hz, $J_{7,8}$ = 16 Hz), 4.08 (s, $-OCH_2O-$), 3.38 (d, 8-H, $J_{7,8}$ = 16 Hz), 3.2 (m, $H_{aromat.}$).

MS: (rel. Intensität $>$ 10 %) bei 180°C aufgenommen

m/e = 304 (8, $M^+$), 143 (19), 135 (12), 129 (10), 128 (100), 115 (14), 113 (69), 103 (14), 85 (20), 84 (32), 77 (11).

4.2.11.4. Synthese von 5,6-cis-5-Methoxy-7,8-dihydromethysticin

100 g 5,6-cis-5-Methoxymethysticin werden in 5 ml Essigester und 5 ml Äthanol mit 0.1 g vorhydriertem PdC-Katalysator (10 proz.) hydriert. Nach Beendigung der Wasserstoffaufnahme (1 mol, 10 min) wird der Katalysator abfiltriert und das Filtrat zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wird in Äther gelöst und 24 h bei 0°C aufbewahrt. Es werden 75 mg farblose Kristalle erhalten.

Eigenschaften von 5,6-cis-5-Methoxy-7,8-dihydromethysticin

Schmp.: 121-122°C

Summenformel: $C_{16}H_{18}O_6$

Mol. Gew.: 306.3

C,H-Analyse: Ber.: C 62.74 % , H 5.92 %

Gef.: C 62.24 % , H 5.92 %

IR: (KBr)

705 (w), 715 (w), 795 (w), 825 (m), 840 (m), 890 (w), 940 (m), 990 (s), 1010 (m), 1050 (s), 1075 (s), 1105 (m), 1180 (m), 1200 (m), 1230 (s), 1260 (s), 1295 (m), 1335 (w), 1345 (w), 1365 (m), 1400 (m), 1445 (m), 1495 (s), 1505 (s), 1630 (s), 1710 (s), 2790 (w), 2840 (w), 2900 (w), 2950 (w), 2970 (sh) $[cm^{-1}]$.

NMR: ($CDCl_3$, 100 MHz)

$\tau$ = 8.3-7.4 (m, 7-H), 7.4-7.1 (m, 8-H), 6.58 (s, 5-$OCH_3$), 6.50-6.46 (m, 5-H, $J_{5,6}$ = 3 Hz), 6.24 (s, 4-$OCH_3$), 5.9-5.7 (m, 6-H), 4.8 (s, 3-H), 4.11 (s, -$OCH_2O$-), 3.36-3.22 (m, $H_{aromat.}$).

MS: (rel. Intensität $>$ 10 %) bei 165°C aufgenommen

m/e = 306 (31, $M^+$), 165 (21), 161 (11), 149 (11), 148 (50), 147 (19), 139 (15), 136 (23), 135 (100), 131 (13), 128 (21),

115 (11), 113 (46), 103 (19), 91 (23), 89 (11), 85 (25), 84 (35), 79 (11), 78 (12), 77 (40), 71 (11), 69 (13), 65 (13), 63 (12), 51 (23).

4.2.11.5. Synthese von 5,6-trans-5-Methoxy-7,8-dihydromethysticin

100 mg 5,6-trans-5-Methoxymethysticin werden analog dem cis-Isomeren katalytisch hydriert und aufgearbeitet. Es kristallisieren nach mehrtägigem Stehen bei 0°C 60 mg 5,6-trans-5-Methoxy-7,8-dihydromethysticin als farblose Nadeln.

Eigenschaften von 5,6-trans-5-Methoxy-7,8-dihydromethysticin

Schmp.: 53-55°C

Summenformel: $C_{16}H_{18}O_6$

Mol. Gew.: 306.3

C,H-Analyse: Ber.: C 62.74 % , H 5.92 %

Gef.: C 62.97 % , H 6.19 %

IR: (KBr)

685 (w), 735 (w), 745 (w), 785 (w), 820 (m), 840 (m), 875 (w), 935 (m), 945 (m), 1000 (m), 1045 (s), 1095 (s), 1120 (m), 1195 (m), 1220 (s), 1250 (s), 1290 (w), 1370 (m), 1445 (m), 1490 (s), 1505 (s), 1635 (s), 1705 (s), 2780 (w), 2830 (w), 2890 (w), 2940 (w), 2990 (sh) $[cm^{-1}]$.

NMR: ($CDCl_3$, 100 MHz)

$\tau$ = 8.2-7.9 (m, 7-H), 7.4-7.1 (m, 8-H), 6.54 (s, 5-$OCH_3$), 6.34 (d, 5-H, $J_{5,6}$ = 7 Hz), 6.24 (s, 4-$OCH_3$), 5.78-5.55 (m, 6-H), 4.84 (s, 3-H), 4.12 (s, -$OCH_2O$-), 3.46-3.22 (m, $H_{aromat.}$).

MS: (rel. Intensität > 10 %) bei 60°C aufgenommen

m/e = 306 (28, $M^+$), 171 (10), 165 (10), 161 (11), 148 (34), 139 (49), 136 (42), 135 (100), 128 (15), 113 (40), 91 (10), 85 (17), 77 (21).

4.2.11.6. Synthese von 5-Methoxy-5,6-dehydromethysticin

100 mg 5,6-cis-5-Methoxymethysticin werden in 20 ml Xylol mit 200 mg Chloranil 8 h unter Rückfluß gekocht. Nach Filtrieren wird das Lösungsmittel i. Vak. vertrieben und der Rückstand an einer Kieselgelsäule (Ø 2 cm, 75 g Kieselgel) mit Cyclohexan / Essigester 1:1 fraktioniert eluiert. Nach DC-Prüfung werden die Fraktionen vereinigt, die 5-Methoxy-5,6-dehydromethysticin (hRf 40, Kieselgelplatten, Benzol / Aceton 8:2, 2 x entwickelt) enthalten. Der Eindampfrückstand, aus Methanol umkristallisiert, ergibt 75 mg 5-Methoxy-5,6-dehydromethysticin als gelbe, feine Nadeln.

Eigenschaften von 5-Methoxy-5,6-dehydromethysticin

Schmp.: 255-258°C

Summenformel: $C_{16}H_{14}O_6$

Mol. Gew.: 302.3

C,H-Analyse: Ber.: C 63.57 % , H 4.67 %

Gef.: C 64.19 % , H 5.05 %

IR: (KBr)

690 (w), 765 (m), 805 (m), 820 (w), 920 (w), 935 (m), 965 (m), 975 (m), 1005 (w), 1040 (m), 1075 (m), 1110 (w), 1155 (m), 1200 (m), 1240 (m), 1260 (s), 1285 (m), 1310 (m), 1325 (w), 1363 (m), 1420 (s), 1450 (s), 1465 (s), 1500 (s), 1540 (s), 1630 (s), 1715 (s), 1820 (w), 2825 (w), 2910 (w), 2950 (m), 2980 (w), 3080 (m) $[cm^{-1}]$.

NMR: ($CDCl_3$, 100 MHz)

$\tau$ = 6.2 (s, 5-$OCH_3$), 6.1 (s, 4-$OCH_3$), 4.5 (s, 3-H), 4.04 (s, -$OCH_2O$-), 3.29-3.13 (d, 7-H, $J_{7,8}$ = 16 Hz), 3.2-2.8 (m, $H_{aromat.}$), 2.68 (d, 8-H, $J_{7,8}$ = 16 Hz).

MS: (rel. Intensität > 10 %) bei 165°C aufgenommen
m/e = 303 (15), 302 (100, $M^+$), 287 (13), 259 (21), 231 (10), 228 (21), 215 (11), 175 (73), 147 (17), 145 (42), 117 (30), 99 (10), 91 (10), 89 (55), 69 (33).

4.2.12. Eigenschaften von S VII

Schmp.: 218-219°C

Summenformel: $C_{15}H_{14}O_5$

Mol. Gew.: 274.3

C,H-Analyse: Ber.: C 65.69 % , H 5.15 %
Gef.: C 64.68 % , H 4.88 %

Rf-Wert x 100: 31 (Benzol / Aceton 8:2, 2 x entwickelt)

UV: (Methanol Uvasol "Merck")

$\lambda$ max 220 nm $\varepsilon$ = 24100
$\lambda$ max 252 nm $\varepsilon$ = 14000
$\lambda$ max 370 nm $\varepsilon$ = 22700

IR: (KBr)
675 (w), 685 (sh), 715 (w), 725 (w), 755 (m), 790 (sh), 810 (s), 835 (s), 860 (w), 895 (w), 955 (m), 965 (s), 970 (sh), 1005 (m), 1030 (m), 1055 (m), 1125 (m), 1150 (s), 1160 (s), 1170 (sh), 1180 (s), 1200 (s), 1235 (w), 1255 (s), 1280 (s), 1300 (sh), 1350 (m), 1365 (m), 1405 (s), 1425 (s), 1450 (s), 1460 (sh), 1485 (w), 1510 (s), 1550 (s), 1580 (m), 1595 (sh), 1610 (s), 1635 (s), 1705 (s), 1910 (w), 2850 (w), 2880 (w), 2920 (w), 2940 (w), 2980 (w), 3010 (w), 3020 (w), 3050 (w), 3090 (w), 3120 (w), 3370 (s) [$cm^{-1}$].

NMR: (DMSO, 60 MHz)

$\tau$ = 6.15 (s, 4-$OCH_3$, 11-$OCH_3$), 4.34-4.48 (d, 3-H), 3.73-3.85 (d, 5-H), 3.21 (d, 7-H), 2.68 (d, 8-H), 2.53-3.4 (m, 7-H, 8-H, $H_{aromat.}$), 0.61 (s, 12-OH).

MS: (rel. Intensität > 10 %) bei 180°C aufgenommen

m/e = 275 (49), 274 (100, $M^+$), 273 (14), 257 (20), 247 (19), 246 (57), 254 (14), 231 (43), 229 (13), 228 (12), 227 (15), 218 (27), 215 (18), 214 (25), 213 (19), 204 (27), 203 (72), 199 (30), 188 (21), 187 (21), 185 (20), 177 (23), 175 (48), 171 (41), 161 (27), 160 (23), 151 (23), 148 (25), 147 (21), 145 (36), 143 (37), 137 (31), 134 (23), 133 (23), 131 (41), 125 (49), 117 (30), 115 (48), 107 (24), 105 (32), 103 (24), 93 (23), 91 (23), 89 (49), 78 (39), 77 (47), 69 (59), 59 (49), 51 (45), 43 (42).

Das IR-Spektrum von S VII ist deckungsgleich mit dem von 11-Methoxy-12-noryangonin (49),(60).

4.2.13. Isolierung von S VI

Die vereinigten Fraktionen $F_3$ und $F_4$ aus mehreren Ansätzen des Wurzelextraktes (s. 4.2.4.) wurden vom Lösungsmittel befreit, in wenig Methanol aufgenommen und mehrere Tage in den Kühlschrank gestellt. Das auskristallisierte Gemisch, DC-bestehend aus S I, S II und S IV wurde abgetrennt, das Filtrat eingeengt und mit Celite 1:1 verrieben. Zur Feintrennung wurden jeweils 6 g dieser Verreibung auf eine Säule (Ø 2.3 cm) gebracht, die mit 100 g Kieselgel, aufgeschlemmt in Benzol / Aceton 9:1, beschickt war und mit Benzol / Aceton

9:1 eluiert wurde. Die nach DC-Prüfung S VI enthaltenden Fraktionen wurden vereinigt, im Vakuum eingeengt und mit wenig heißem Äthanol aufgenommen. Die im Kühlschrank bei -2°C ausfallende Substanz wurde mehrmals aus heißem Äthanol umkristallisiert.

Ausbeute: Es wurden aus 1 kg lufttrockener Droge etwa 1.5 g weiße Kristalle in Form von Plättchen erhalten, das sind 0.15 %.

4.2.14. Eigenschaften von S VI

Weißglänzende Kristalle, die unter Zersetzung bei 152-156°C schmelzen. Es konnte eine Veränderung der Kristalle bei 72°C und bei 151°C beobachtet werden (Polymorphie).

C,H-Analyse: Ber.: C 84.40 % , H 11.72 % (berechnet auf $C_{29}H_{48}O$)
Gef.: C 82.62 % , H 11.93 %

Optische Drehung: $[\alpha]_{20}^{D}$ = -50 ($CHCl_3$)

Rf-Wert x 100: 52 (Benzol / Aceton 8:2, 2 x entwickelt)

Zusammensetzung: $C_{29}H_{48}O$ ( 412.70 )
$C_{29}H_{50}O$ ( 414.70 )
$C_{28}H_{48}O$ ( 400.66 )

IR: (KBr)

755 (w), 810 (m), 850 (w), 895 (sh), 935 (w), 970 (m), 980 (m), 1000 (sh), 1020 (sh), 1030 (m), 1065 (s), 1100 (w), 1115 (m), 1140 (w), 1165 (w), 1185 (w), 1200 (m), 1240 (m), 1260 (w), 1315 (w), 1340 (m), 1370 (sh), 1385 (s), 1445 (sh), 1455 (sh), 1465 (s), 1630 (m), 1655 (sh), 1670 (sh), 1680 (sh), 1700 (sh), 1730 (sh), 1770 (w), 1790 (w), 2660 (w), 2695 (w), 2880 (s), 2900 (sh), 2940 (s), 2960 (s), 3030 (sh), 3450 (s), 3640 (sh), 3660 (sh), 3690 (w), 3730 (w) [$cm^{-1}$].

NMR: ($CDCl_3$, 60 MHz)

$\tau$ = 9.3 (s,-$CH_3$), 8.99 (s,-$CH_3$), 6.5 (m, breit, 1 H), 4.87 (m, 2 H), 4.62 (m, 2 H).

MS: (rel. Intensität > 1 %) bei 65°C aufgenommen

m/e = 414 (14), 412 (24), 400 (10), 399 (6), 397 (6), 396 (7), 394 (4), 385 (2), 382 (7), 381 (6), 379 (5), 371 (2), 369 (7), 367 (5), 357 (1), 353 (3), 351 (4), 339 (1), 329 (8), 327 (3), 316 (2), 315 (7), 314 (5), 303 (7), 302 (4), 301 (6), 304 (14), 289 (7), 288 (3), 273 (15), 271 (20), 259 (3), 255 (33), 239 (5), 231 (11), 213 (29), 199 (13), 185 (13), 173 (26), 163 (26), 161 (29), 159 (51), 147 (40), 145 (58), 143 (15), 135 (24), 133 (23), 131 (21), 123 (24), 121 (24), 119 (26), 117 (33), 115 (36), 111 (10), 109 (40), 107 (58), 105 (80), 55 (100).

## 4.2.15. Synthese von 5-Acetoxy-5,6-dehydrokawain

### 4.2.15.1. Synthese von 5,6-cis-5-Acetoxykawain

100 mg 5,6-cis-5-Hydroxykawain (47) werden in 10 ml Pyridin mit 5 ml Acetanhydrid über Nacht acetyliert. Nach der üblichen Aufarbeitung kristallisieren aus Äther / Aceton 80 mg 5,6-cis-5-Acetoxykawain als weiße Kristalle.

Eigenschaften von 5,6-cis-5-Acetoxykawain

Schmp.: 135-136°C

Summenformel: $C_{16}H_{16}O_5$

Mol. Gew.: 288.3

C,H-Analyse: Ber.: C 66.66 % , H 5.59 %
Gef.: C 66.77 % , H 5.62 %

IR: (KBr)
685 (m), 720 (w), 760 (m), 840 (w), 855 (m), 870 (sh), 900 (m), 945 (sh), 960 (m), 985 (m), 1065 (s), 1050 (m), 1065 (sh), 1080 (m), 1100 (sh), 1175 (sh), 1210 (s), 1225 (s), 1245 (s), 1280 (s), 1295 (sh), 1310 (w), 1320 (w), 1360 (s), 1380 (s), 1440 (m), 1450 (sh), 1480 (w), 1570 (w), 1595 (sh), 1610 (sh), 1630 (s), 1650 (sh), 1695 (s), 1735 (s), 1800 (sh), 2850 (w), 2920 (w), 2940 (w), 2980 (w), 3025 (w), 3080 (w) $[cm^{-1}]$.

NMR: ($CDCl_3$, 60 MHz)
$\tau$ = 7.95 (s, 5-OCO$CH_3$), 6.20 (s, 4-O$CH_3$), 4.97-4.78 (m, 6-H), 4.65 (d, 3-H), 4.40 (dd, 5-H), 4.02 (dd, 7-H), 3.13 (dd, 8-H), 2.8-2.6 (m, 5 $H_{aromat.}$).

MS: (rel. Intensität > 1 %) bei 35°C aufgenommen
m/e = 288 (12, $M^+$), 246 (25), 228 (8), 200 (5), 185 (3), 164 (7), 142 (8), 141 (5), 133 (2), 131 (10), 129 (3), 128 (4), 115 (20), 114 (100), 105 (10), 104 (10), 103 (12), 91 (10), 86 (22), 85 (80), 83 (50), 77 (10), 69 (5).

4.2.15.2. Synthese von 5,6-trans-5-Acetoxykawain

100 mg 5,6-trans-5-Hydroxykawain (47) werden analog dem cis-Isomeren acetyliert und aufgearbeitet. Es werden 90 mg weiße Kristalle erhalten.

Eigenschaften von 5,6-trans-5-Acetoxykawain

Schmp.: 102-103°C

Summenformel: $C_{16}H_{16}O_5$

Mol. Gew.: 288.3

C,H-Analyse: Ber.: C 66.66 % , H 5.59 %

Gef.: C 66.72 % , H 5.82 %

IR: (KBr)

690 (m), 725 (w), 740 (m), 750 (m), 815 (m), 835 (w), 855 (w), 890 (w), 945 (m), 970 (s), 980 (s), 1005 (sh), 1020 (s), 1085 (s), 1100 (sh), 1150 (sh), 1200 (s), 1210 (s), 1250 (s), 1275 (sh), 1305 (sh), 1340 (s), 1360 (s), 1385 (s), 1415 (sh), 1440 (m), 1450 (sh), 1485 (w), 1570 (w), 1630 (s), 1650 (sh), 1675 (sh), 1705 (s), 1745 (s), 1800 (sh), 2850 (w), 2920 (w), 2970 (w), 3000 (w), 3055 (w) $[cm^{-1}]$.

NMR: ($CDCl_3$, 60 MHz)

$\tau$ = 7.87 (s, 5-OCO$CH_3$), 6.24 (s, 4-O$CH_3$), 5.04-4.83 (m, 6-H), 4.69 (s, 3-H), 4.55 (d, 5-H), 3.86 (dd, 7-H), 3.25 (d, 8-H), 2.8-2.6 (m, 5 $H_{aromat.}$).

MS: (rel. Intensität $>$ 10 %) bei 120°C aufgenommen

m/e = 288 (0.5, $M^+$), 229 (12), 228 (70), 211 (10), 200 (50), 185 (14), 164 (20), 157 (26), 141 (14), 133 (10), 131 (12), 129 (12), 128 (12), 115 (30), 114 (100), 105 (18), 104 (12), 103 (20), 91 (25), 86 (30), 77 (25), 69 (10).

4.2.15.3. Synthese von 5-Acetoxy-5,6-dehydrokawain

300 mg 5,6-cis-5-Acetoxykawain werden in 50 ml Xylol mit 500 mg Chloranil 8 h am Rückfluß gekocht. Das Xylol wird i. Vak. vertrieben, der Rückstand auf eine Kieselgelsäule (Ø 2 cm, 60 g Kieselgel) gegeben und mit Cyclohexan / Essigester 1:1 eluiert. Sobald im Eluat kein Chloranil mehr nachweisbar ist (DC-Prüfung), wird mit Essigester weiter eluiert. Die Fraktionen, die 5-Acetoxy-5,6-dehydrokawain enthalten (hRf 52, Kieselgelplatten, Cyclohexan / Essigester 1:1, 2 x entwickelt), werden vereinigt und vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird aus Aceton umkristallisiert. Es werden 125 mg feine gelbe Nadeln erhalten.

4.2.16. Eigenschaften von 5-Acetoxy-5,6-dehydrokawain

| | |
|---|---|
| Schmp.: | 164-165°C |
| Summenformel: | $C_{16}H_{14}O_5$ |
| Mol. Gew.: | 286.3 |
| C,H-Analyse: | Ber.: C 67.13 % , H 4.93 % |
| | Gef.: C 66.41 % , H 4.72 % |

IR: (KBr)

670 (m), 685 (m), 705 (w), 745 (s), 790 (w), 825 (m), 870 (m), 910 (w), 950 (s), 995 (m), 1035 (sh), 1060 (m), 1140 (s), 1185 (s), 1260 (s), 1295 (w), 1315 (w), 1330 (w), 1365 (m), 1410 (s), 1450 (s), 1460 (s), 1540 (s), 1605 (m), 1630 (s), 1695 (sh), 1725 (s), 1760 (s), 1800 (sh), 2810 (w), 2920 (w), 2950 (w), 3020 (w), 3045 (sh), 3060 (w), 3070 (w) $[cm^{-1}]$.

NMR: ($CDCl_3$, 60 MHz)
$\tau$ = 7.65 (s, 5-$OCOCH_3$), 6.17 (s, 4-$OCH_3$), 4.48 (s, 3-H), 3.35 (d, 7-H, $J_{7,8}$ = 16 Hz), 2.78-2.38 (m, 8-H und 5 $H_{aromat.}$).

MS: (rel. Intensität > 10 %) bei 165°C aufgenommen
m/e = 286 (11, $M^+$), 244 (100), 200 (15), 199 (13), 183 (11), 173 (10), 157 (7), 156 (8), 145 (7), 131 (66), 115 (12), 112 (11), 103 (58), 84 (18), 77 (34), 69 (34).

4.2.17. Synthese von 5-Hydroxy-5,6-dehydrokawain

Die Mutterlauge des 5-Acetoxy-5,6-dehydrokawain wird zur Trockne eingeengt und der Rückstand (ca 180 mg) mit 20 ml 5 %-iger äthanol. KOH im Wasserbad erwärmt. Das Reaktionsgemisch wird mit HCl dil. angesäuert, mit 150 ml Wasser verdünnt und mit Essigester extrahiert. Der Extrakt wird säurefrei gewaschen, getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Der gelbe Rückstand kristallisiert aus Aceton : 90 mg feine, gelbe Nadeln.

4.2.18. Eigenschaften von 5-Hydroxy-5,6-dehydrokawain

Schmp.: 207-211°C
Summenformel: $C_{14}H_{12}O_4$
Mol. Gew.: 244.25
C,H-Analyse: Ber.: C 68.85 % , H 4.95 %
Gef.: C 68.39 % , H 4.94 %

NMR: (DMSO, 60 MHz)
$\tau$ = 6.02 (s, 4-$OCH_3$), 4.25 (s, 3-H), 2.9-2.2 (m, 7-H, 5-OH und 5 $H_{aromat.}$).

IR: (KBr)

685 (s), 710 (sh), 750 (s), 770 (w), 805 (s), 835 (w), 920 (m), 945 (s), 975 (s), 1055 (s), 1155 (s), 1205 (s), 1245 (s), 1275 (sh), 1315 (m), 1335 (sh), 1415 (s), 1445 (sh), 1465 (s), 1485 (sh), 1530 (sh), 1555 (s), 1600 (sh), 1625 (s), 1645 (sh), 1660 (s), 1680 (sh), 1690 (sh), 2845 (w), 2865 (w), 2920 (w), 2945 (w), 3020 (w), 3075 (w), 3200 (m, breit) $\left[cm^{-1}\right]$.

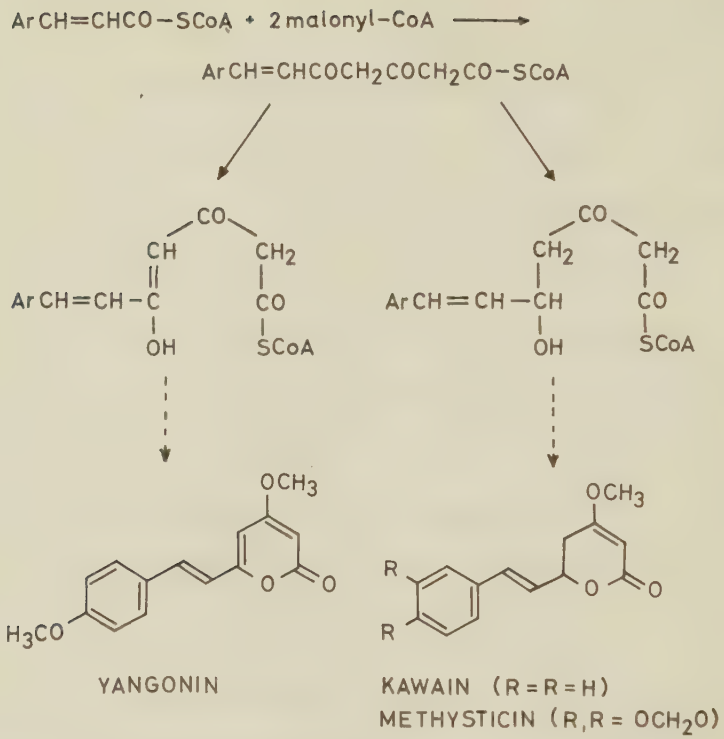
MS: (rel. Intensität $>$ 10 %) bei 165°C aufgenommen

m/e = 244 (100, $M^+$), 202 (16), 201 (12), 199 (16), 198 (13), 183 (14), 173 (19), 157 (12), 156 (12), 145 (10), 132 (17), 131 (92), 128 (17), 115 (19), 112 (16), 104 (21), 103 (75), 102 (19), 85 (20), 84 (46), 77 (58), 69 (83).

## 5. DISKUSSION

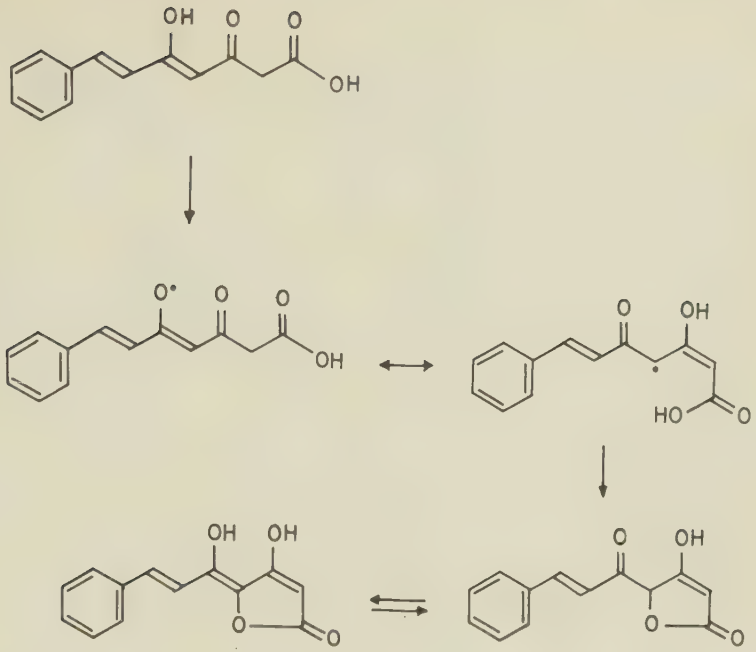
Aus Piper sanctum wurden bisher insgesamt sieben unterschiedliche Varianten von $C_{13}$-Laktonen isoliert, von denen vier nur in der Wurzel vorkommen, die drei anderen jedoch sowohl in Sproß als auch in der Wurzel gemeinsam auftreten. Bei den zuletzt genannten Inhaltsstoffen von Sproß und Wurzel handelt es sich um fünfgliedrige Laktone vom Typus der O-Methyltetronsäure (Cinnamylidenbutenolide = Piperolide), bei den zuerst erwähnten Stoffen um 4-Methoxy-6-styryl-pyrone-2 (Kawalaktone). Zur Biosynthese beider Varianten liegen experimentelle Untersuchungen nicht vor. Aus ihrem Aufbauprinzip wird die Annahme nahegelegt, daß sie entweder durch Kondensation von zwei Acetaten mit einem Phenylpropan oder durch Kondensation von drei Acetaten und einem $C_6$-$C_1$-Körper entstehen. Wie das von GEISSMAN und CROUT (61) vorgeschlagene Biosyntheseschema (Schema 1) zeigt, hält man die Entstehung der Kawalaktone aus $C_6$-$C_3$ plus $C_2$-$C_2$ (Acetoacetat) - wohl aus Analogiegründen zu den Flavonen - für wahrscheinlicher. Auch in den Piperoliden sind die nämlichen Bauelemente enthalten, was einen ähnlichen Aufbauweg vermuten läßt. Solange über die Natur der beteiligten Enzyme nichts bekannt ist, bleibt es einem unbenommen, sich die Cyklisierung ionisch (Schema 1) oder auch radikalisch (Schema 2) (63) ablaufend zu denken.

Ein hypothetisches Biosyntheseschema scheint allerdings erst dann befriedigend, wenn nicht nur die Bildung des Grundkörpers der Reihe "unter zellmöglichen Bedingungen" formuliert ist, sondern wenn die ganze Palette von Varianten, von Haupt- und



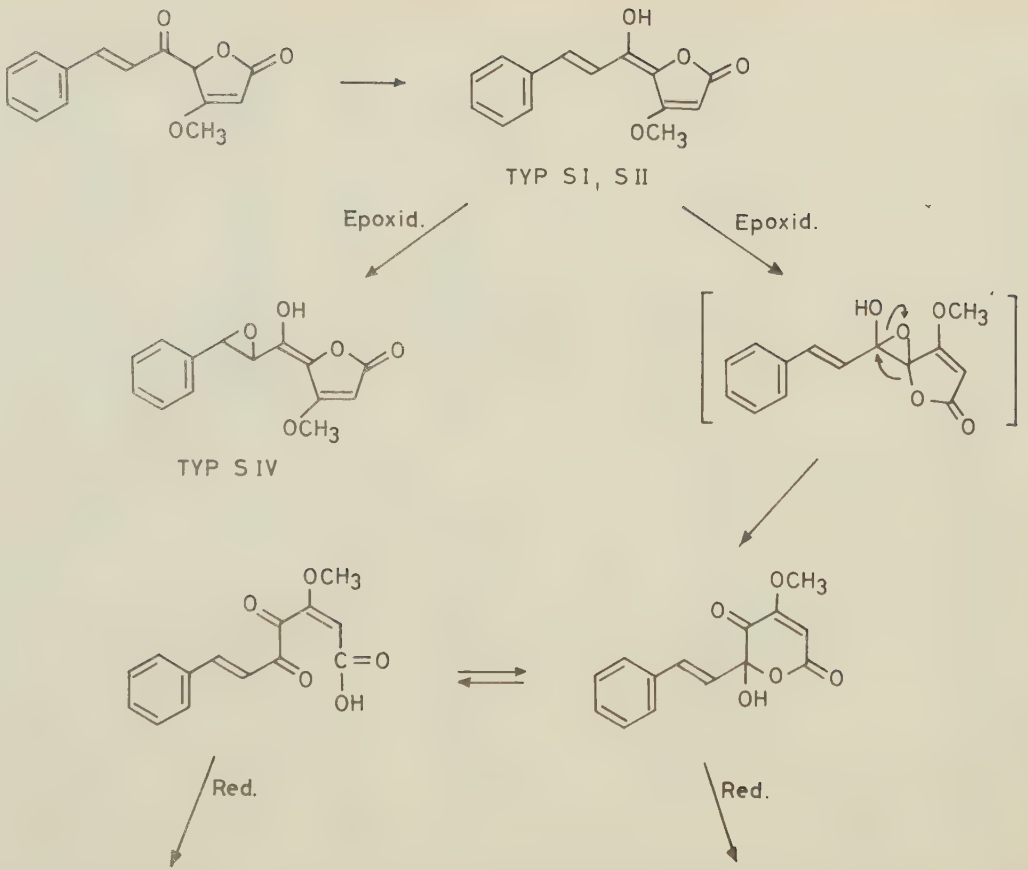

Schema 1 : Biosyntheseschema der Kawalaktone nach T. A. GEISSMAN und D. H. G. CROUT

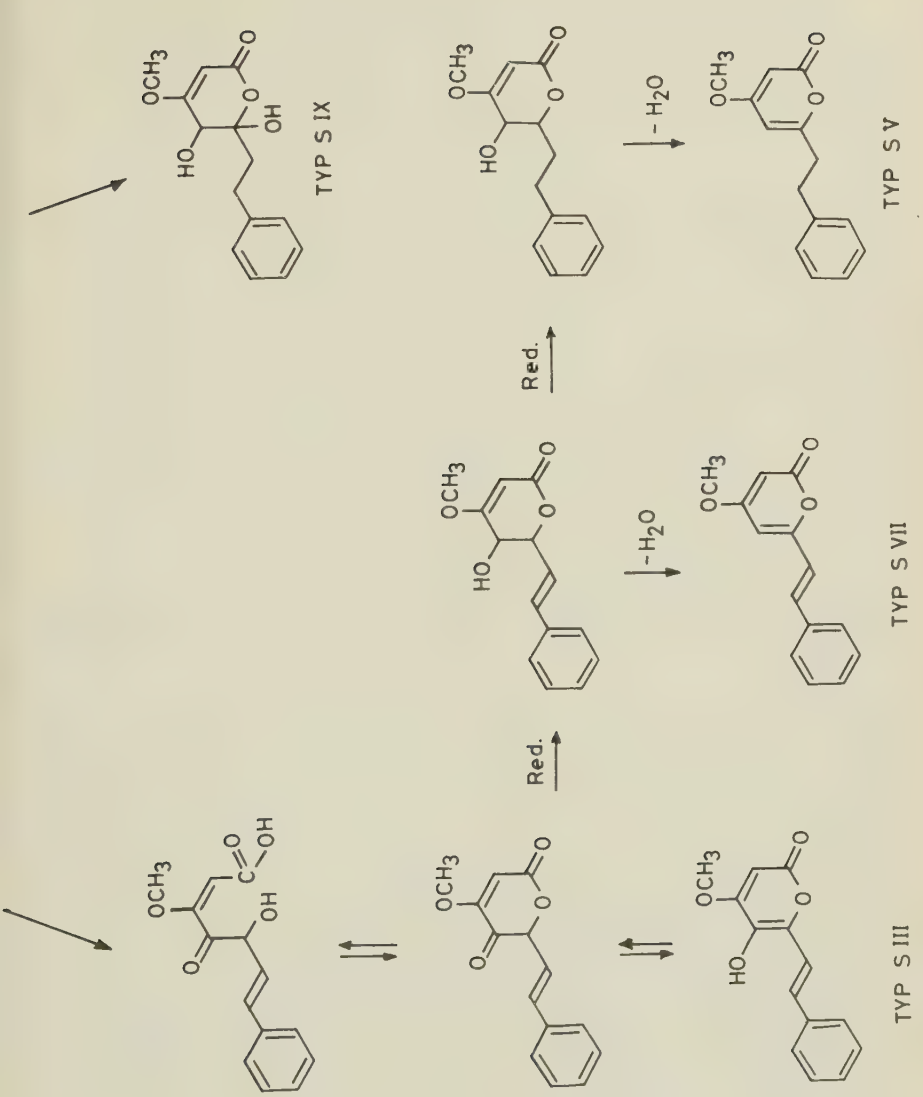
Nebenlaktonen, in dieses Schema eingebaut ist, sei es in einer linearen Folge, sei es sich verzweigend von einer gemeinsamen Muttersubstanz ausgehend. Besonders befriedigend sind derartige Schemata insbesondere dann, wenn sie eine Korrelation von zwei oder mehr Strukturmerkmalen aufweisen. Als Beispiel hierfür sei aus der Phenylpropanreihe das Nichtauftreten von Propenyl- und Allylderivaten, wenn p-ständige Sauerstoff-Funktionen im aromatischen Ring fehlen (65), genannt.



Schema 2 : Biosyntheseschema der Piperolide nach A. PELTER

Häufig bieten sich mehrere Möglichkeiten an, die gemeinsam in einer Pflanze auftretenden Stoffe "biosynthetisch" zu ordnen. Die größere Wahrscheinlichkeit spricht man oft derjenigen Reihung zu, die den "Vorzug der Einfachheit" aufweist: man ordnet z. B. nach Reduktionsgrad oder nach Oxidationsstufe oder (besonders bei Annahme von "Spontanreaktionen") nach Zahl der Ringe. Typisch für eine derartige Reaktionskette ist die inzwischen experimentell verifizierte Folge von Dehydratationen, Reduktionen und Kondensationen beim Aufbau der Fettsäuren. Bekanntlich läuft diese Biosynthese an einer einzigen Struktur


OCH3
OH
TYP S I, S II
Epoxid.
Epoxid.
TYP S IV
HO
C=O
Red.
Red.




Schema 3 : Hypothetisches Biosyntheseschema der Kawalaktone

(einem Multienzymkomplex [LYNEN]) ab, was nichts anderes als eine räumliche Nähe von Katalysator, Reaktions- und Zwischenprodukt bedeutet. Betrachten wir demgegenüber ein anderes, viel studiertes Biosynthese-Schema, nämlich das der Opiumalkaloide (66): Hier formuliert man im ersten Teil des Schemas den Übergang vom Reticulin zum Salutaridin als radikalisch ablaufende Dehydrierung (= oxidative Kupplung), im weiteren Verlauf aber die Bildung von Codeinon und Codein-Morphin als Reduktionen (Hydrierungen). Diese Art "Bruch" im Biosynthese-Schema - und im Falle der Opiumbasen ist das Durchlaufen der angeführten Zwischenstufen weitgehend experimentell gesichert - läßt wohl kaum eine andere Deutung zu, als die Annahme getrennter Reaktionsorte. Das Postulat getrennter Reaktionsorte für Stoffe einer Reaktionskette bedeutet: nach Bildung der Vorstufen findet ein Transport dieser Vorstufen und weitere chemische Umwandlung während des Transportes oder nach Ablagerung statt.

Es gibt eine Reihe von Hinweisen dafür, daß der Akkumulationsort und der Bildungsort von sekundären Pflanzenstoffen nicht unbedingt identisch sind (67). Ein Extremfall liegt offensichtlich dann vor, wenn wie bei Datura ferox Pflanzenstoffe in einem Organ gebildet und zur Akkumulation in ein anderes Organ transportiert werden. Als ein Indiz dafür, daß ein solcher Fall vorliegt, wertet man Beobachtungen über qualitative und quantitative Unterschiede einer Stoffgruppe abhängig vom analysierten Pflanzenorgan. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurde gefunden, daß im ausdauernden Strauch Piper sanctum die $C_{13}$-Körper (Piperolide und Kawalaktone) qualita-

tiv und quantitativ unterschiedlich auf Sproß und Wurzel verteilt sind, wobei die Wurzel das komplizierter zusammengesetzte Spektrum aufweist. Es liegt somit nahe, einen Transportmechanismus vom Blatt durch den Sproß, sowie Akkumulation in der Wurzel, nebst chemischen Veränderungen in der Wurzel oder während des Transportes zu postulieren. Es erscheint daher reizvoll, die aus Piper sanctum isolierten $C_{13}$-Körper in einem Biosynthese-Schema nunmehr so zu ordnen, daß eine Erklärung für diese organcharakteristische Verteilung Wurzel / Sproß möglich wird. Das Ergebnis derartiger Überlegungen ist in Schema 3 zusammengefaßt. Am stärksten fällt auf, daß Laktone vom Typ des Yangonins als Endglieder in der Biosynthesereihe erscheinen, während bei GEISSMAN (Schema 1) das Yangonin unmittelbar erstes Cyclisierungsprodukt der offenkettigen Vorstufe darstellt. Ähnlich wie beim Biosynthese-Schema der Opiumbasen zeigt auch Schema 3 eine Zweiteilung insofern als zunächst Oxidationen, hier besonders Epoxidierungen, auftreten, denen sich eine Folge von Reduktionen anschließt. Welcher Wahrscheinlichkeitsgehalt diesem hypothetischen Schema zukommt, läßt sich zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht abschätzen. Es ist wenig mehr als eine Anregung zu weiteren experimentellen Untersuchungen. Es liegt nunmehr nahe, als nächstes einmal die Blätter selbst in die Untersuchung einzubeziehen, sodann Analysen an Pflanzenmaterial unterschiedlichen Entwicklungsstandes durchzuführen, um schließlich gezielte in vivo Experimente folgen zu lassen.

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

In Fortsetzung früherer Arbeiten (1),(2),(26),(27) wurden nunmehr die in geringen Mengen vorkommenden Nebenlaktone aus Piper sanctum untersucht. Es gelang, drei Substanzen zu isolieren, die jeweils in Mengen von etwa 0.001 % in der Wurzel vorkommen.

Die erste der isolierten Substanzen wurde durch Vergleich mit einer authentischen Probe als 11-Methoxy-12-noryangonin identifiziert.

Die Konstitution der zweiten, einer bisher in der Literatur nicht beschriebenen Substanz, wurde mit Hilfe spektroskopischer Methoden aufgeklärt. Es handelt sich um das 5-Methoxy-5,6-dehydromethysticin, ein Kawalakton mit einer biogenetisch unüblichen zusätzlichen Sauerstoff-Funktion im Laktonring. Die Struktur wurde durch Synthese des Naturstoffes selbst als auch durch die seines Tetrahydroderivates endgültig bewiesen.

Auch bei der dritten Substanz handelt es sich um eine neue, vom biogenetischen Blickpunkt aus insofern interessante Substanz, als der Laktonring zwei zusätzliche Sauerstoff-Funktionen trägt. Die Konstitutionsaufklärung und die Synthese dieser Substanz gelang erst nach Fertigstellung der vorliegenden Dissertation in Zusammenarbeit mit R. HÄNSEL und J. SCHULZ.

Es wurden die bisher angewandten chromatographischen Trennmethoden für Cinnamylidenbutenolide (Piperolide) und 4-Methoxy-6-styryl-$\alpha$-pyrone (Kawalaktone) verbessert und die Lakton-

führung von Wurzel und Sproß exakter bestimmt als in einer früheren Arbeit (2). Während die Kawalaktone, zu denen auch die drei neu isolierten Substanzen gehören, nur in der Wurzel lokalisiert sind, finden sich die Piperolide, die in sehr hohen Konzentrationen vorliegen, sowohl im Sproß als auch in der Wurzel. Von diesen experimentellen Ergebnissen ausgehend, wurde eine hypothetische Biosynthesereihe aufgestellt, welche die organspezifische Differenzierung in der Laktonführung erklärlich machen könnte.

Die Massenspektren von 4-Methoxy-6-styryl-$\alpha$-pyronen mit einer zusätzlichen Sauerstoff-Funktion im Pyronteil wurden interpretiert. Hierfür wurden zwei weitere bisher in der Literatur nicht beschriebene Substanzen synthetisiert: das 5-Hydroxy-5,6-dehydrokawain und das 5-Acetoxy-5,6-dehydrokawain.

Bei der Aufarbeitung der laktonhaltigen Fraktionen fiel eine Substanz an, bei der spektroskopisch nachgewiesen werden konnte, daß es sich hierbei um ein Gemisch aus Stigmasterin, ß-Sitosterin und Campesterin handelt. Es wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht versucht, das Gemisch weiter aufzutrennen.

## 7. LITERATURVERZEICHNIS

(1) R. HÄNSEL und A. PELTER, Cinnamylidenbutenolide aus Piper sanctum, Pharm. Zeitung 23, 822 (1971)

(2) L. LANGHAMMER, R. HÄNSEL und A. G. POMPA, Pharmakognostische Charakterisierung von Piper sanctum, DAZ 112, 16 (1972)

(3) H. SAUER und R. HÄNSEL, Kawalaktone und Flavonoide aus einer endemischen Piperart Neu Guineas, Planta medica 15, 443 (1967)

(4) L. KLAPROTH und R. HÄNSEL, Arch. Pharm. 299, 503 (1966)

(5) M. MARTINEZ, Las Plantas Medizinales de Mexico, ediciones Botas Mexico, 4. edicion (1959)

(6) T. G. YUNKER, The Piperaceae - A family profile, Brittonia 10, 1-7 (1958)

(7) STRASBURGER, Lehrbuch der Botanik, 30. Auflage (1971)

(8) HEGNAUER, Chemotaxonomie der Pflanzen 5, 311 (1969)

(9) DRAGENDORFF, Die Heilpflanzen der verschiedenen Völker und Zeiten (1967)

(10) A. ENGLER, Syllabus der Pflanzenfamilien, Herausgeber H. Melchior (1964)

(11) ARMEN TAKHTAJAN, Flowering Plants, Origin and Dispersal, Edinburgh (1969)

(12) STRASBURGER, Lehrbuch der Botanik, 27. Auflage (1958)

(13) W. B. MORS, M. TAVEIRA MAGALHAES und O. R. GOTTLIEB, Naturally Occuring Derivates of Monocyclic $\alpha$-Pyrones, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe XX, 158 (1962)

(14) HEGNAUER, Chemotaxonomie der Pflanzen, 4, 369 (1966)

(15) M. O'RORKE und N. T. GOBLEY, J. Pharm. Chim. 3. Serie 37, 19; Compt. rend. 50, 598 (1860)

(16) C. POMERANZ, Mh. Chem. 10, 783 (1889)

(17) D. E. NOLTING und H. KOPP, Le Monit. scientif. S. 920 (1874)

(18) E. WINZHEIMER, Arch. Pharm. 246, 338 (1908)

(19) W. BORSCHE und W. PEITZSCH, Ber. dtsch. chem. Ges. 63, 2414 (1930)

(20) K. PEINEMANN, Arch. Pharm. 234, 204 (1896)

(21) SCHIRZAD KHEZERLU, Zur Pharmakologie von Laktonverbindungen, Inaugural-Dissertation Freiburg (1971)

(22) H. J. MEYER und R. KRETSCHMAR, Arzneim. Forsch. 19, 730 (1969)

(23) A. G. van VEEN, Geneesk. Tijdschr. Nederland. Indie 78, 1941 (1938)

(24) H. U. BEIERSDORFF, Dissertation Berlin (1959)

(25) R. HÄNSEL und H. U. BEIERSDORFF, Arzneim. Forsch. 9, 581 (1959)

(26) R. HÄNSEL und A. PELTER, Phytochemistry 10, 1627 (1971)

(27) A. PELTER und R. HÄNSEL, Z. Naturforsch. B 27, 1186 (1972)

(28) J. D. BU'LOCK und H. G. SMITH, J. chem. Soc., London 1960, 502 (1960)

(29) E. M. F. FOWLER und H. B. HENBEST, J. chem. Soc. IV, 3642 (1950)

(30) D. KOSTERMANS, Nature (London) 166, 788 (1950)

(31) T. M. HARRIS und C. S. COMBS, J. org. Chem. 33, 2399 (1968)

(32) W. BORSCHE und C. K. BOBENSTEIN, Ber. dtsch. chem. Ges. 62, 2515 (1929)

(33) M. W. KLOHS und Mitarb., J. Med. Pharm. chem. 1, 95 (1959)

(34) W. BORSCHE und W. PEITZSCH, Chem. Ber. 62, 360 (1929)

(35) R. HÄNSEL, Kawa-Wirkstoffe, Katalytische Reduktion von 6-Styryl-4-Methoxy-$\alpha$-Pyronen, Planta medica 3, 317 (1963)

(36) F. WERNY und R. HÄNSEL, Naturwissenschaften 50, 355 (1963)

(37) J. CHMIELEWSKIA, J. CHIESLAK, K. GORCAYNSKA, B. KONTNIK und K. PITAKOWSKA, Tetrahedron 4, 36 (1958)

(38) D. HERBST, W. B. MORS, O. R. GOTTLIEB und C. DJERASSI, J. Amer. Chem. Soc. 81, 2427 (1959)

(39) R. HÄNSEL und H. RIMPLER, Z. Anal. Chem. 207, 270 (1965)

(40) R. HÄNSEL, L. LANGHAMMER, H. RIMPLER, Arch. Pharm. 300, 157 (1967)

(41) P. BEAK und H. ABELSON, J. Org. Chem. 27, 3715 (1962)

(42) H. NAKATA, Y. HIRATA, A. TAMEMATSU, Tetrahedron Lett. 2, 123 (1965)

(43) PORTER und BALDAS, Mass Spektrometry of Heterocyclic Compounds S. 142 (1971)

(44) M. PAILER, G. SCHADEN und R. HÄNSEL, Monatsh. Chem. 96, 1849 (1965)

(45) H. ACHENBACH und G. WITTMANN, Dihydrokawain-5-ol, ein neuer Alkohol aus Rauschpfeffer, Tetrahedron Lett. 37, 3259 (1970)

(46) M. KARPLUS, J. Chem. Phys. 30, 11 (1950)

(47) R. HÄNSEL und J. SCHULZ, Chem. Ber. 106, 570 (1973)

(48) C. S. BARNES und J. L. OCCOLOWITZ, Austral. J. Chem. 17, 975 (1964)

(49) R. HÄNSEL, H. SAUER, H. RIMPLER, 11-Methoxy-noryangonin aus einer botanisch nicht beschriebenen Piperart Neuguineas, Arch. Pharm. 299, 507 (1966)

(50) Varian High Solution NMR-Spektra Catalog, 1962

(51) W. NEUDERT, H. RÖPKE, Steroid-Spektrenatlas, Berlin - Heidelberg - New York (1965)

(52) JEOL, High Resolution NMR-Spektra, Sadtler, Philadelphia, 1967, No 60-218

(53) M. SPITELLER-FRIEDMANN, G. SPITELLER, Massenspektren von Steroiden, Fortschr. chem. Forsch. 12, 440 (1969)

(54) G. von UNRUH, M. SPITELLER-FRIEDMANN und G. SPITELLER, Tetrahedron 26, 3039 (1970)

(55) G. von UNRUH und G. SPITELLER, Tetrahedron 26, 3289-3301, 3303-3311, 3329-3346 (1970)

(56) B. A. KNIGHTS, J. Gaschromatography 5, 273 (1967)

(57) M. SPITELLER-FRIEDMANN und G. SPITELLER, J. org. Mass. Spectrometry 1, 231 (1968)

(58) G. W. PETTERSON et R. W. KRAUSS, Plant Cell Physiol. (Tokyo), 6, 211 (1965) ref. in C. A. 64, 3637b (1966)

(59) E. STAHL, Dünnschichtchromatographie, 2. Auflage, S. 85 (1967)

(60) C. MENTZER, Actualités de Phytochimie fondamentale, 3, S. 224

(61) T. A. GEISSMAN und D. H. G. CROUT, Organic Chemistry of Secondary Metabolism, S. 174, Freeman, Cooper and Company (1969)

(62) R. HÄNSEL, C. BEER, J. SCHULZ, unveröffentlicht, in Vorbereitung

(63) A. PELTER Ph. D., University College of Swansea, persönliche Mitteilung

(64) H. BUDZIKIEWICZ, C. DJERASSI und D. H. WILLIAMS, Structure elucid. of nat. prod. by mass spectr. II, 275, (1964)

(65) A. J. BIRCH, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe, XIV, 205 (1957)

(66) M. LUCKNER, Sekundärstoffwechsel in Pflanze und Tier, S. 283, Fischer Verlag Jena (1969)

(67) M. LUCKNER, Sekundärstoffwechsel in Pflanze und Tier, S. 21, Fischer Verlag Jena (1969)

## 8. LEBENSLAUF

Am 16. Juli 1941 wurde ich, Carola Beer, als letztes von drei Kindern den Eheleuten Wilhelm Beer und Gertrud Beer geb. Wegs, in Friedland Kr. Waldenburg geboren. Nach unserer Flucht aus Schlesien im Januar 1945 besuchte ich in Oberstaufen/Allgäu ab Herbst 1947 vier Jahre lang die Volksschule, danach in Kempten die Oberschule und anschließend das Gymnasium in Walsrode/Hann., wo ich im Februar 1962 das Abitur bestand.

Meine Praktikantenzeit absolvierte ich vom 1. April 1962 bis zum 31.3.1964 in der Hirsch-Apotheke in Rheydt, im März 1964 bestand ich die Pharmazeutische Vorprüfung in Düsseldorf. Bis zum Beginn des Studiums im WS 1965 arbeitete ich als vorgeprüfte Apothekenanwärterin in meiner Lehrapotheke und in der Hirsch-Apotheke in Mönchengladbach, sowie zwei Monate in der Heil- und Pflegeanstalt "Hephata" in Mönchengladbach.

Nach insgesamt sechs Semestern Studium in Passau und Bonn, legte ich im Oktober 1968 an der Rhein. Friedrich-Wilhelm-Universität in Bonn die Pharmazeutische Prüfung ab. Nach einem weiteren Jahr, in dem ich als Kandidatin der Pharmazie in der Hirsch-Apotheke in Mönchengladbach tätig war, erhielt ich die Approbation als Apotheker.

Seit Januar 1970 beschäftige ich mich mit der vorliegenden Arbeit unter der Leitung von Herrn Professor Dr. R. Hänsel am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin.

Vom 1. April 1970 bis 30. September 1972 war ich am gleichen Institut als Tutor beschäftigt, seit 1. Oktober 1972 bin ich mit der Wahrnehmung der Dienstgeschäfte eines wissenschaftlichen Assistenten beauftragt. Am 1. November 1972 wurde ich zum wissenschaftlichen Assistenten unter Berufung in das Beamtenverhältnis auf Widerruf ernannt.